



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**STUDIUM ÚČINNOSTI ODSTRANĚNÍ MIKROPOLUTANTŮ
NA KOŘENOVÉ ČISTÍRNĚ ODPADNÍCH VOD**

STUDY OF MICROPOLUTANT REMOVAL AT THE ROOT SEWAGE TREATMENT PLANT

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Karolína Pešková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1529/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Karolína Pešková**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Studium účinnosti odstranění mikropolutantů na kořenové čistírně odpadních vod

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracovat literární rešerši zaměřenou na problematiku výskytu a odstranění mikropolutantů na kořenových čistírnách odpadních vod.
2. Na základě literární rešerše provést výběr sledovaných analytů a navrhnout metodu jejich stanovení.
3. Odebrat a analyzovat reálné vzorky z kořenové čistírny odpadních vod.
4. Získané výsledky vhodně vyhodnotit a diskutovat.

Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2020:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Karolína Pešková
student(ka)

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se v teoretické části zaměřuje na vysvětlení pojmu kořenová čistírna odpadních vod, dále se věnuje detailnějšímu popisu a fungování těchto čistíren. Pozornost je věnována rozdělení kořenových čistíren, jejich základním funkčním principům, vegetaci, vybraným léčivům a metodám jejich stanovení.

V části experimentální byly zpracovány vzorky odpadní vody z kořenové čistírny odpadních vod v obci Dražovice na Vyškovsku. V odpadní vodě bylo sledováno osm vybraných léčiv (atenolol, azithromycin, diklofenak, ibuprofen, karbamazepin, klarithromycin, sulfamethoxazol a trimethoprim). Tato léčiva byla izolována z odpadní vody pomocí extrakce na tuhou fázi a následně byla použita metoda pro identifikaci a kvantifikaci – kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí.

ABSTRACT

This bachelor thesis focuses in the theoretical part on explaining the concept of a root sewage treatment plant. There is also a more detailed description of these root sewage treatment plants functioning. Attention is paid to the phases of root sewage treatment plants, their basic functional principles, vegetation, selected pharmaceuticals and methods of their determination.

In the experimental part, samples of wastewater from the root sewage treatment plant in Dražovice in Vyškov District, were processed. Eight selected drugs (atenolol, azithromycin, diclofenac, ibuprofen, carbamazepine, clarithromycin, sulfamethoxazole and trimethoprim) were monitored in wastewater. These drugs were isolated from wastewater by solid phase extraction and then a method for identification and quantification was used – liquid chromatography with mass detection.

KLÍČOVÁ SLOVA

kořenová čistírna odpadních vod, léčiva, extrakce na pevnou fázi, kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí

KEYWORDS

root sewage treatment plant, pharmaceuticals, solid phase extraction, liquid chromatography with mass detection

PEŠKOVÁ, Karolína. Studium účinnosti odstranění mikropolutantů na kořenové čistírně odpadních vod. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/123999>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

DECLARATION

I declare that the bachelor thesis has been worked out by myself and that all the quotations from the used literary sources are accurate and complete. The content of the bachelor thesis is the property of the Faculty of Chemistry of Brno University of Technology and all commercial uses are allowed only if approved by both the supervisor and the dean of the Faculty of Chemistry, BUT.

.....

student's signature

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří Ing. Ludmile Mravcové, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovala. Dále pak děkuji Ing. Pavlíně Landové, která mi vždy ochotně poradila a pomohla. A nakonec bych ráda poděkovala Výzkumnému ústavu vodohospodářskému T. G. Masaryka v Brně za pomoc při odebírání vzorků.

OBSAH

| | |
|--|----|
| OBSAH | 5 |
| ÚVOD | 7 |
| TEORETICKÁ ČÁST..... | 8 |
| 1 Kořenové čistírny odpadních vod | 8 |
| 1.1 Historie kořenových čistíren | 9 |
| 1.2 Základní principy | 9 |
| 1.3 Rozdělení vegetačních kořenových čistíren podle proudění | 10 |
| 1.4 Účinnost čištění | 11 |
| 1.5 Výhody kořenových čistíren | 12 |
| 1.6 Nevýhody kořenových čistíren..... | 12 |
| 2 Mokřady | 12 |
| 2.1 Systémy s plovoucí vegetací | 13 |
| 2.2 Umělé mokřady s rostlinami s plovoucími listy..... | 13 |
| 2.3 Umělé mokřady s ponořenou (submerzní) vegetací..... | 13 |
| 2.4 Systémy s vynořenou (emerzní) vegetací..... | 13 |
| 3 Vegetace | 14 |
| 3.1 Nejpoužívanější rostliny KČOV..... | 14 |
| 4 Základní princip kořenových čistíren odpadních vod | 17 |
| 4.1 Předčištění | 17 |
| 4.2 Filtrační lože | 17 |
| 4.3 Dimenzování filtračních polí..... | 18 |
| 4.4 Distribuce odpadních vod..... | 18 |
| 4.5 Vegetace | 18 |
| 4.6 Provoz a údržba | 18 |
| 5 Léčiva | 18 |
| 5.1 Zdroje léčiv..... | 20 |
| 6 Biologická aktivita léčiv..... | 20 |
| 6.1 Léčiva ve vodním cyklu | 20 |
| 6.2 Vybraná léčiva..... | 21 |
| 7 Metody stanovení daných analytů..... | 27 |
| 7.1 Extrakce na pevnou fázi (SPE)..... | 27 |
| 7.2 Kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS) | 28 |
| EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 29 |
| 8 Přístroje a pomůcky..... | 29 |

| | | |
|------|---|----|
| 9 | Kořenová čistírna odpadních vod v Dražovicích | 30 |
| 10 | Příprava kalibrace..... | 32 |
| 10.1 | Směsný zásobní roztok ZR-1 | 32 |
| 10.2 | Pracovní roztok PR-1 | 32 |
| 10.3 | Pracovní roztok PR-2 | 32 |
| 10.4 | Kalibrace | 33 |
| 10.5 | Kalibrační křivky jednotlivých léčiv | 33 |
| 11 | SPE – extrakce na pevnou fázi | 34 |
| 11.1 | Postup | 34 |
| 12 | LC-MS – kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí..... | 35 |
| 12.1 | Chromatografické podmínky | 35 |
| 13 | Výsledky a diskuze..... | 35 |
| 13.1 | Výsledky z LC-MS..... | 35 |
| | ZÁVĚR..... | 39 |
| | SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ | 41 |
| | SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK | 45 |
| | PŘÍLOHY | 46 |

ÚVOD

Léčiva a produkty osobní péče (pojem PPCP, tj. pharmaceuticals and personal care products, zavedli v roce 1999 pro část specifických polutantů vypouštěných do toků Daughton a Ternes) tvoří významnou součást specifických polutantů, které jsou vypouštěny do splaškových vod až po použití populací. Obecně lze říci, že se jedná o léčiva, kosmetické přípravky, čisticí a hygienické přípravky apod. Léčiva (farmaka) zaujímají mezi PPCP zvláštní místo, jejich základní složkou jsou biologicky aktivní látky, podávané především perorálně, parenterálně a dermatologicky. Je to skupina látek vymezená podle používání a zahrnující látky s různou chemickou strukturou a odlišnými fyzikálními vlastnostmi [1].

Vzhledem k pozitivnímu účinku léčiv na lidské zdraví nemůžeme předpokládat, že by mohlo dojít k omezení jejich užívání legislativními nástroji. Právě naopak bude jejich spotřeba pravděpodobně stále větší a větší. A to zejména díky rozvoji farmaceutického průmyslu a medicíny se budou objevovat stále nové, doposud nepoznané látky. V České republice už nyní celkový výdej léčiv, ať už těch volně prodejných nebo i předepsaných, dosahuje řádově až desítek tun za rok. Je nutno tedy respektovat jejich užívání v současné (a rozvíjející se) míře a zkoumat možnosti jejich eliminace v systémech čištění komunálních odpadních vod [1], [2].

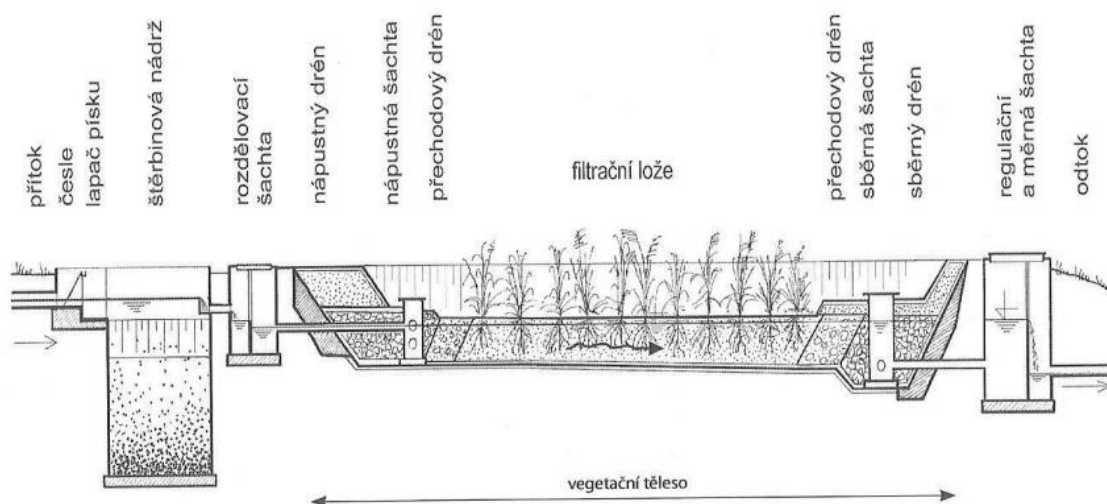
Kořenové čistírny odpadních vod jsou především navrhovány a dimenzovány pro odstraňování organických a nerozpuštěných látek, čímž jsou myšleny zejména parametry, které jsou omezeny pro malé zdroje znečištění [3].

TEORETICKÁ ČÁST

1 Kořenové čistírny odpadních vod

Kořenové čistírny odpadních vod, které lze také nazývat vegetační kořenové čistírny, patří v České republice hned po biologických nádržích k nejvíce rozšířeným typům extenzivních technologií využívaných k čištění odpadních vod z malých obcí [4], [5].

Jedná se tedy o zařízení sloužící primárně k čištění odpadní vody. Základním principem těchto čistíren je horizontální průtok odpadní vody skrze propustný substrát, který je osázen mokřadními rostlinami. Při průtoku odpadní vody filtračním materiálem dochází, kombinací fyzikálních, chemických a biologických procesů, k odstraňování znečištění. Kořenová čistírna je vhodná především v případě přerušovaného provozu zdroje odpadních vod. Tím jsou myšleny rekreační objekty, letní tábory, chalupy apod. Dále je vhodná v případě, kdy dochází ke kolísání koncentrace a množství odpadních vod, anebo při přítoku zředěných odpadních vod, které mohou pocházet z jednotné kanalizace [3], [6].



Obrázek 1. Schéma kořenové čistírny s horizontálním podpovrchovým průtokem [4]

Kořenová čistírna se jako celek skládá podle druhu přiváděné vody a napojené kanalizace převážně z následujících částí:

Mechanické předčištění

- Jemné a hrubé česle
- Lapač písku
- Usazovací nádrž

Hlavní stupeň čištění

- Vertikální nebo horizontální filtr
- Soustava filtrů

Dočištění

- Stabilizační nádrž

Součástí kořenové čistírny odpadních vod je soustava šachet, které jsou většinou betonové nebo plastové. Tyto šachty potom plní specifické funkce. Další součástí tvoří propojovací potrubí, měrné objekty apod [3].

1.1 Historie kořenových čistíren

První kořenová čistírna v České republice, konkrétně v Petrově u Jílového v Praze, byla do provozu uvedena v roce 1989. Do dvou let byly uvedeny do provozu další čtyři kořenové čistírny. Tento malý nárůst počtu čistíren byl způsoben zejména odporem vodohospodářských orgánů, a také kvůli skutečnosti, že kořenové čistírny nebyly na seznamu tzv. „doporučených způsobů čištění odpadních vod pro malé zdroje znečištění“. Po zrušení tohoto seznamu získaly obce větší finanční nezávislost a mezi lety 1992 a 1993 bylo do provozu uvedeno dalších 22 kořenových čistíren. V ostatních zemích Evropy byl začátek provozu čistíren obdobný. Hlavní příčinou, proč byly kořenové čistírny přijaty v některých zemích až po více než 10 letech vodohospodářskými institucemi, byla skepse vůči jednoduchosti systému čištění [3].

Od roku 1989 bylo do provozu uvedeno už minimálně přes 160 kořenových čistíren (2004), čímž se Česká republika řadí ke státům Evropy s největším počtem kořenových čistíren [3].

1.2 Základní principy

Skoro všechny kořenové čistírny v České republice byly a jsou doposud navrhovány především jako čistírny s horizontálním podpovrchovým průtokem a vhodným mechanickým předčištěním [4].

Za čištění jsou zodpovědné zejména mikroorganismy, které se podílejí především na:

- denitrifikaci neboli biochemické redukci dusičnanů na molekulární dusík za anaerobních podmínek – dochází k rozkladu dusíkatých organických látek, kdy proteolytické bakterie štěpí aminokyseliny a amonizační bakterie, které způsobují přeměnu rozpuštěného organického dusíku na amonné ionty,
- nitrifikaci – jedná se o aerobní chemoautotrofní mikrobiální proces, při kterém amonné ionty přecházejí na dusitany a dusičnany (bakterie nitrifikační) a dále je nitrifikace limitujícím krokem při odstraňování dusíku v kořenových čistírnách,
- rozkladu celulózy, ke kterému dochází za pomoci methanobakterií při anaerobních podmínkách anebo za pomoci celulytických bakterií a myxobakterií za aerobních podmínek,
- rozkladu škrobu a nižších cukrů za účasti amylolytických bakterií,
- rozkladu tuků za účasti lipolytických bakterií,
- rozkladu organických a anorganických látek, které obsahují síru (sulfurikační a desulfurikační bakterie) a to z důvodu, aby docházelo k redukci síranů na sulfidy, kdy je třeba silně anaerobní prostředí,
- rozkladu organických a anorganických sloučenin fosforu za účasti fosfobakterií [4], [5].

Dále jsou čisticí procesy v kořenových čistírnách ovlivněny také vnějšími činiteli působícími na filtrační prostředí. Mezi tyto činitele řadíme především klimatické činitele jako jsou teplota vody, teplota vzduchu, vlhkost vzduchu, rychlost větru a sluneční radiace. Dále to mohou být hydraulické a hydrologické podmínky, kam patří velikost průtoku, hydraulické zatížení, doba zdržení vody ve filtračním poli, fyzikální, chemické a hydraulické vlastnosti filtrační náplně, provedení nátokové a odtokové zóny filtračního pole, způsob proudění vody. A v neposlední řadě sem řadíme vliv vegetace, kdy se mohou projevovat značné rozdíly mezi vegetačním a nevegetačním obdobím, kvalitu porostu, jeho hustotu a zapojení, rozvoj biomasy, růstovou fázi a odběr živin [4].

1.3 Rozdělení vegetačních kořenových čistíren podle proudění

Vegetační kořenové čistírny odpadních vod dělíme podle druhu proudění do čtyř základních skupin:

- a) vegetační kořenové čistírny s horizontálním povrchovým prouděním,
- b) vegetační kořenové čistírny s horizontálním podpovrchovým prouděním,
- c) vegetační kořenové čistírny s vertikálním prouděním směrem dolů,
- d) vegetační kořenové čistírny s vertikálním prouděním směrem vzhůru.

Pro praktické využití jsou nejvíce propracované vegetační kořenové čistírny s horizontálním prouděním [7].

1.3.1 Vegetační kořenové čistírny s horizontálním povrchovým prouděním

Vegetační kořenové čistírny s povrchovým horizontálním prouděním mají charakter plošného přeronu na plochách s vlhkomilnými a mokřadními rostlinami. Povrchový průtok způsobuje málo propustné půdní prostředí půdního filtru. Při výstavbě můžeme složení půdního substrátu ovlivnit tak, aby docházelo k proudění převážně povrchovému a částečně i podpovrchovému [7].

Pro povrchový tok vody je charakteristická malá průtočná rychlost v nízké vrstvě vody, což je příčinou intenzivní sedimentace usaditelných částic na počátku půdního filtru a také jeho postupného zanášení. Vodní, vlhkomilné a mokřadní rostliny pomáhají snižovat průtočnou rychlost. Při tenké vrstvě vody dochází k dostatečnému styku vodního prostředí a ovzduší a ke kvalitnímu okysličování vody. Toto jsou příznivé podmínky urychlující proces čištění, nitrifikace a tím i významné snížení amoniakálního znečištění. Část uvolněných rostlinných živin je vázána biomasou. V zimě, zejména za mrazivého počasí, je nutno zvýšit hladinu vody, aby voda proudila pod ledem a v půdním prostředí. Při velkých mrazech se odpojí povrchová sekce a veškerá odpadní voda se čistí pouze ve vegetační kořenové čistírně s podpovrchovým průtokem [7].

Účinnost čištění úzce souvisí se způsobem a možnostmi ovládání provozních a čisticích funkcí, rozsahem znečištění v přitékající vodě, zatížení, druhu a kvalitě porostu, klimatických podmínkách [7].

1.3.2 Vegetační kořenové čistírny s horizontálním podpovrchovým průtokem

Vegetační kořenová čistírna s horizontálním podpovrchovým průtokem je tvořena těsněnou jámkou, která je naplněna filtračním materiálem a osázena určitým typem mokřadních či vlhkomilných rostlin jako je například rákos obecný, chrastice rákosovitá, orobínek širokolistý aj. Mechanicky čištěná odpadní voda se rovnoměrně rozděluje perforovaným potrubím, protéká půdním filtrem a je odváděna sběrnou drenáží. Výšku hladiny lze regulovat speciálním objektem (regulační šachtice) [7].

1.3.3 Vegetační kořenové čistírny s vertikálním prouděním

Vegetační kořenové čistírny s vertikálním prouděním lze rozdělit na dva základní typy dle proudění, dolů a vzhůru. Ve vegetační kořenové čistírně s vertikálním prouděním dolů se odpadní voda přivádí na povrch vegetační čistírny. V zimním období, kdy zamrzá půda, se odpadní voda přivádí do rozdělovacího potrubí, které je umístěno pod terénem. Vegetační kořenová čistírna s vertikálním prouděním směrem vzhůru přivádí odpadní vodu k těsněnému dnu vegetační čistírny do rozdělovacího potrubí, případně pod perforované dno, filtruje se přes přechodový filtr a filtrační prostředí směrem vzhůru a na povrchu přepadá do sběrného žlábků, resp. je odváděna sběrným drénem, uloženým pod povrchem. Krátkodobým zatopením povrchu vegetační čistírny je možno ničit plevely [7].

1.4 Účinnost čištění

Kořenové čistírny jsou navrhovány a dimenzovány zejména pro odstraňování organických a nerozpuštěných látek, tj. parametrů, které jsou limitovány pro malé zdroje znečištění. V tabulce 1. je uveden souhrn účinnosti kořenových čistíren v České republice. Nutno poznamenat, že účinnost čištění, kterou dosahují kořenové čistírny v České republice, je zcela srovnatelná s účinností kořenových čistíren ve světě [3].

Tabulka 1. Účinnost kořenových čistíren v ČR. n = počet ročních průměrů, N = počet KČOV. Průměrná účinnost vypočítána na základě účinnosti jednotlivých čistíren [3].

| Parametr | Přítok [mg/l] | Odtok [mg/l] | Účinnost [%] | n | N |
|----------------------------------|---------------|--------------|--------------|-----|----|
| BSK ₅ | 150 | 14,4 | 85,8 | 184 | 65 |
| CHSK _{Cr} | 333 | 53 | 76,1 | 109 | 40 |
| Nerozpuštěné látky | 165 | 11,9 | 84,8 | 125 | 44 |
| Celkový N | 56 | 27,6 | 47,0 | 37 | 16 |
| NH ₄ ⁺ – N | 27,5 | 18,0 | 33,4 | 77 | 31 |
| NO ₃ ⁻ – N | 5,8 | 2,45 | 40,9 | 31 | 12 |
| Celkový P | 6,8 | 3,3 | 41,4 | 68 | 26 |

1.5 *Výhody kořenových čistíren*

- jsou schopny čistit odpadní vody, které obsahují nízkou koncentraci organických látek, tento fakt je u klasických čistíren odpadních vod problémem
- dobře se vyrovnávají s kolísáním množství a kvality odpadních vod
- mohou pracovat přerušovaně, což klasické čistírny nemohou
- vyžadují sice pravidelnou, ale minimální údržbu
- obejdou se bez elektrické energie
- mají menší náchylnost k havárii systému
- jsou součástí krajiny a dobře se do ní začleňují, případně mohou plnit i estetickou funkci [3]

1.6 *Nevýhody kořenových čistíren*

- oproti klasickým čistírnám jsou náročnější na plochu
- zejména starší kořenové čistírny nejsou vhodné pro odstraňování amoniaku a fosforu
- na odtoku se někdy může objevit bílý povlak, který je tvořený elementární sírou, která se tvoří při oxidaci sirovodíku, který může (ale také nemusí) vznikat při anaerobních podmínkách ve filtračních ložích
- mechanické čistírny mají lepší předpoklady pro řízení čistícího procesu, pro analýzu čistícího procesu, pro analýzu případných problémů a pro aplikace nápravných opatření [3]

2 **Mokřady**

V pozitivním ovlivňování vodního režimu hrají významnou roli mokřady. Jsou schopny zadržovat a postupně uvolňovat větší množství vody než uměle vytvořené vodní nádrže. Například mokřad, který má plochu pouze 10 m², zadrží až 9000 litrů vody [8].

Důležitá je i velká biologická rozmanitost mokřadů. Jsou nejen domovem vážek, obojživelníků, vodního ptactva, ale i mnoha chráněných druhů rostlin [8].

Uměle vytvořené mokřady jsou systémy navrhované a stavěné tak, aby pro čištění odpadních vod používaly procesy probíhající v přirozených mokřadech. Umělé mokřady můžeme rozdělit podle několika kritérií, zejména dle druhu použité vegetace a dle způsobu průtoku odpadní vody [3].

Podle vnější stavby rostlinného těla lze mokřadní vegetaci rozdělit do čtyř základních skupin:

- a) systémy s plovoucí vegetací
- b) umělé mokřady s rostlinami s plovoucími listy
- c) umělé mokřady s ponořenou vegetací
- d) systémy s vynořenou (emerzní) vegetací [3], [5]

2.1 Systémy s plovoucí vegetací

Tyto systémy využívají zejména vodní hyacint (*Eichhornia crassipes*) a okřešky (*Lemna spp.*). Kvůli velké produkci biomasy a schopnosti přijímat a kumulovat velké množství živin se koncem 70. a začátkem 80. let 20. století tyto systémy jevíly jako velmi nadějný, a to především kvůli odstraňování dusíku a fosforu z odpadních vod. Bohužel se ukázalo, že provoz těchto systémů je velmi neekonomický a to z důvodu nutnosti pravidelného sklizení a následného využití biomasy, nutnosti intenzivního provzdušňování pro více zatížené systémy a dále také proto, že růst rostlin je velmi limitován klimatickými podmínkami. Například vodní hyacint je sice schopen plného růstu po celý rok, ale jen v tropických a subtropických oblastech [3].

2.2 Umělé mokřady s rostlinami s plovoucími listy

Mezi rostliny s plovoucími listy patří např. lekníny (*Nymphaea spp.*) nebo stulíky (*Nuphar spp.*), které jsou však využívány jen ojediněle, a i proto neexistuje dostatek informací o jejich používání [3].

2.3 Umělé mokřady s ponořenou (submerzní) vegetací

Ve stále větší míře se po celém světě uplatňují mokřady s ponořenou vegetací. Ovšem kvůli fyziologické povaze rostlin je nezbytně nutné, aby ve vodě nebyly přítomny vyšší koncentrace nerozpuštěných látek a aby tím nebyla limitována fotosyntéza rostlin z důvodu nedostatku světla. Submerzní rostliny dále upřednostňují vodu s vyšším obsahem rozpuštěného kyslíku. Z těchto již zmíněných důvodů se tyto systémy využívají především na dočišťování odpadních vod anebo popřípadě pro odpadní vody s nízkým obsahem organických látek. Rostlin, které je možné využít, je velké množství, např. morovinka hustolistá (*Egeria densa*), vodní mor kanadský (*Elodea canadensis*), růžkatec ostnitý (*Ceratophyllum demersum*) nebo přeslenice vodní (*Hydrilla verticillata*) [3].

2.4 Systémy s vynořenou (emerzní) vegetací

Bezpochyby největší skupinou umělých mokřadů jsou systémy s vynořenou neboli emerzní vegetací. V Německu proběhly první pokusy s využitím emerzních mokřadních rostlin pro čištění odpadních vod již na počátku 50. let 20. století. Ovšem mokřadní čistírny byly do plného provozu uvedeny až koncem 60. a začátkem 70. let v Nizozemí a v Německu. Dále je možné systémy s vynořenou vegetací dělit podle toho, jestli je nebo není přítomna volná vodní hladina [3].

2.4.1 Dělení systémů s emerzní vegetací podle přítomnosti volné vodní hladiny

Umělé mokřady s volnou vodní hladinou jsou umělé mokřady s povrchovým tokem. Jsou využívány po celém světě, nejrozšířenější jsou v Severní Americe, kde jich je v dnešní době v provozu kolem deseti tisíc. Při takovém způsobu čištění je znečištění odstraňováno ve vodním sloupci pomocí mělkých nádrží, které jsou prorostlé mokřadní vegetací [3].

Systémy bez volné vodní hladiny, tedy systémy s podpovrchovým tokem, jsou v dnešní době nejvíce používanými umělými mokřady. Na základě průtoku je dále dělíme na systémy

s horizontálním průtokem (tzv. kořenové čistírny odpadních vod, KČOV) a systémy s vertikálním průtokem [3].

Mezi rostliny, které jsou v horizontálně podpovrchově protékaných umělých mokřadech v České republice nejvíce využívány, patří především rákos obecný a chrastice rákosovitá, dále potom zblochan vodní nebo orobince. Ovšem v domovních mokřadech jsou využívány většinou druhy okrasné, mezi které patří například kosatec žlutý, puškvorec obecný, skřípenec jezerní a další [5].

3 Vegetace

I přesto, že přítomnost makrofyt ve filtračním poli není pravděpodobně pro výrazné zvýšení čistícího účinku rozhodující, plní rostliny řadu důležitých funkcí:

- chrání a stabilizují povrch filtrační náplně (substrátu),
- tvoří vhodné prostředí pro mikroorganismy, které jsou přítomné v substrátu,
- částečně chrání před ucpáváním substrátu,
- přináší kyslík do blízkosti kořenů rostlin, čímž vznikají oxické a anoxické zóny vyskytující se v blízkém okolí,
- zvyšují estetický účinek a umožňují příznivé začlenění do krajiny,
- odčerpávají živiny, a naopak přináší uhlík z rozkládajících se organických zbytků [4].

Úloha mokřadní vegetace v kořenových čistírnách je stále předmětem výzkumu. Dosavadní výsledky potvrzují, že vegetace má jistý vliv na čistící procesy. Předmětem výzkumu jsou především dva faktory, a to množství kyslíku, které se nachází v kořenové zóně a dále potom odběr živin. Všechna makrofyta přijímají a akumulují celou řadu makroelementů i mikroelementů, včetně živin, těžkých kovů apod. Jejich další vynikající vlastností je, že vynikají mezi všemi rostlinami ve schopnosti vázat minerální živiny do organické hmoty [4].

3.1 Nejpoužívanější rostliny KČOV

Nejčastěji používanou rostlinou pro kořenové čistírny je rákos, který snáší velké znečištění a chrastice rákosovitá, která roste velmi rychle. U menších čistíren jsou také oblíbené kosatce, žlutý a sibiřský, který je ale chráněný a jeho použití by mělo být povoleno. Rostliny jsou důležité především z toho důvodu, že napomáhají tvořit podmínky pro odstranění znečištění, jako je především okysličování filtračního lože nebo vytváření podkladů pro růst přisedlých bakterií na kořenech a oddencích [9].

3.1.1 Charakteristika nejpoužívanějších rostlin KČOV

3.1.1.1 Rákos obecný (*Phragmites australis*)

Jedná se o vytrvalou bylinu, která dorůstá až do výšky kolem čtyř metrů. V teplejších oblastech konkrétně v jižních oblastech světa může dorůstat až do výšky kolem šesti metrů. V zemi se zakořeňuje pomocí mohutného plazivého oddenku a pomocí kořenů, které prorůstají do značných hloubek, a to i více než 70 cm. Pomocí již zmíněných oddenků se rákos velice dobře rozmnožuje vegetativně. Lze ho samozřejmě množit i semeny, ale z důvodu jeho dobré vegetativní množivosti se toto v praxi moc nepoužívá. Stéblo je zakončeno bohatou a hustou latou, která je dlouhá asi 40 cm a která se za květu rozkládá. Rákos patří k neproduktivnějším

mokřadním rostlinám, které jsou velmi tolerantní vůči výkyvům pH, anorganickému i organickému znečištění, ale na druhou stranu nesnáší pravidelné sklízení ve vegetační sezóně. Kvete na přelomu léta a podzimu, tedy v srpnu a v září [4], [10].



Obrázek 2. Rákos obecný [11]

3.1.1.2 Chrastice (lesknice) rákosovitá (*Phalaris arundinacea*)

Jedná se o vytrvalou bylinu, která se podobá rákosu. Dorůstá do výšky kolem třech metrů. Mohutný kořenový systém je propleten oddenky, ovšem neprorůstá do takové hloubky jako rákos, ale pouze do 20–30 cm. Množí se dobře vegetativně (výhony, oddenky) nebo i pomocí semen. Má bohaté laty, kterou jsou dlouhé až 20 cm, jsou zelené až načervenalé. Chrastice kvete v období léta od června do července. Výhodou je její tolerance vůči znečištění i promrzání. Ovšem rozmezí pH je velmi úzké (6,1–7,5). Hojně se vyskytuje na březích vod a na podmáčených loukách, v nížinách a pahorkatinách, většinou v porostech [4], [10].



Obrázek 3. Chrastice rákosovitá [12]

3.1.1.3 *Orobinec širokolistý (Typfa latifolia)*

Orobinec širokolistý, jinak též širolistý, je vytrvalá bylina, která dorůstá do výšky až 2,5 metru. Zakořeňuje se pomocí poměrně mělkých, avšak mohutných horizontálně uložených výběžkatých oddenků. Orobinec patří mezi velmi agresivní rostliny. Rozmnožuje se velmi rychle pomocí oddenků, ale množí se dobře i semeny. Produkce biomasy je také značná. Toleruje široké koncentrační rozmezí znečištění a především pH (2–10). Tato bylina se vyskytuje od nížin až po horský stupeň, především ve stojatých hlubokých vodách [4].



Obrázek 4. *Orobinec širolistý* [13]

3.1.1.4 *Skřípenec jezerní (Schoenoplectus lacustris)*

Jedná se o kosmopolitní druh, který roste skoro po celém světě. Dorůstá až do výšky 3,5 metru. Lodyhy jsou tmavě zelené a nemají listy. Květenství jsou na vrcholu lodyhy, jsou nahnědlá a bohatě větvená. Skřípenec je v substrátu zakořeněn pomocí plazivého oddenku a pomocí husté sítě kořenů. Tyto sítě kořenů prorůstají velice snadno až do hloubky jednoho metru. Je poměrně tolerantní ke změnám pH (4,6–9,5) a velmi dobře snáší zaplavení [4].



Obrázek 5. *Skřípenec jezerní* [14]

3.1.1.5 Kosatec žlutý (*Iris pseudacorus*)

Jedná se o jednu z nejkrásnějších rostlin pro kořenové čistírny, která se často využívá jako dekorativní rostlina. Dorůstá do výšky až 1,2 m. Listy jsou mečovité, široké asi 1–3 cm, dlouhé přibližně jako kvetoucí lodyha, květy jsou světle žluté a až 10 cm velké. Její krásný velký žlutý květ můžeme obdivovat v květnu až červenci. Kosatec má rád vlhkou, bahnitou a spíše kyselější půdu, která obsahuje velké množství živin (především dusík a fosfor). Potřebuje občasné zaplavení půdy vodou. Oddenek kosatce žlutého obsahuje slabě jedovaté třísloviny, glykosidy a silice. Dříve byl užíván v léčitelství na zastavení krvácení, a to právě díky obsahu tříslovin. Kosatec se dnes používá především u malých domovních čistíren spolu s dalšími dekorativními rostlinami převážně v koncových částech kořenových polí [4], [10], [15].



Obrázek 6. Kosatec žlutý [16]

4 Základní princip kořenových čistíren odpadních vod

V České republice, ve většině případů, byly doposud kořenové čistírny navrhovány jako čistírny s horizontálním podpovrchovým průtokem. Základním principem těchto kořenových čistíren je horizontální průtok odpadní vody skrze propustný substrát, který je osázen mokřadními rostlinami. Kombinací fyzikálních, chemických a biologických procesů dochází k odstraňování znečištění při průtoku odpadní vody filtračním materiálem [4], [17].

4.1 Předčištění

Mechanické předčištění je nutné zařadit před vlastní kořenovou čistírnu. Pokud dojde k nedokonalému předčištění, tak se dostatečně neodstraní nerozpuštěné látky, které mohou dále ucpat vlastní filtrační lože. Pro domovní čistírnu bohatě stačí jednoduchý septik, usazovací nádrž apod. Pro malé obce je potom vhodnější kombinace česlí a šterbinové nádrže [3], [18].

4.2 Filtrační lože

Filtrační lože má většinou hloubku kolem 60–80 cm. Je nutné, aby byl substrát dostatečně propustný a aby nedocházelo k ucpávání. V dnešní době se nejčastěji používá např. praný šterk. Kvůli dobrému rozvodu odpadní vody jsou rozvodné a sběrné zóny vyplněny hrubým kamenivem. Aby nedocházelo k průsakům, je filtrační lože od podloží izolováno za pomoci nepropustné vrstvy [3], [18].

4.3 Dimenzování filtračních polí

Kořenové čistírny jsou vždy dimenzovány tak, aby bylo zaručeno dostatečné odstranění nerozpuštěných látek i látek organických. Plocha kořenových polí je potom navrhována podle rovnice, která vychází z dlouholetých zkušeností provozu více než sta kořenových čistíren ve Velké Británii a Dánsku. Pokud použijeme tuto rovnici pro městské a domovní splašky, vychází plocha filtračních polí cca 5 m² na jednoho připojeného obyvatele [3], [18].

4.4 Distribuce odpadních vod

Do rozvodné zóny, která je vyplněna hrubým kamením, je přímo přiváděna předčištěná odpadní voda. Pro tento rozvod jsou většinou využívány plastové trubice, které mají velký otvor, aby se zabránilo případnému ucpávání. Na dně filtračního lože je uloženo sběrné potrubí, a to je v odtokové šachtě spojeno s výpustním mechanismem. Výpustním mechanismem se nastavuje výška vodního sloupce ve filtračním loži. Nedávno bylo zjištěno, že se nejlépe osvědčují flexibilní hadice, které jsou zavěšené na řetízcích. Při klasickém provozu je hladina vody udržována asi 5–10 cm pod povrchem filtračního lože. V zimním období je možné vodní hladinu snížit, ale provozní zkušenosti ukazují, že vegetace zajišťuje dostatečnou izolaci před zamrzáním a hladinu vody proto není nutné snižovat [3], [18].

4.5 Vegetace

Mokřadní rostliny plní v kořenových čistírnách řadu důležitých funkcí, například:

- poskytují podklad pro přisedlé mikroorganismy,
- přivádějí kyslík do kořenové zóny,
- zateplují povrch filtračních polí během zimního období [3], [18].

4.6 Provoz a údržba

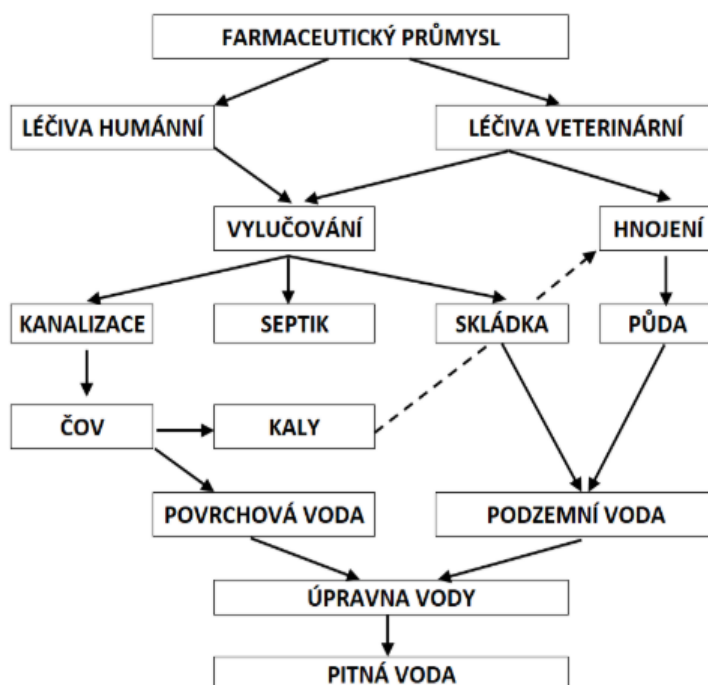
Velkou výhodou kořenových čistíren oproti klasickým je, že nevyžadují elektrickou energii a jejich součástí nejsou žádné mechanické části, které by se eventuálně mohly časem opotřebovat nebo porouchat. Rozhodně to ovšem neznamená, že kořenové čistírny nevyžadují žádnou údržbu. Důležitá je pravidelná kontrola, vyvážení septiku či šterbinové nádrže, čištění česlí, kontrola nastavení výšky vodní hladiny, případně na konci zimního období sekání vegetace. I přesto jsou ale náklady na provoz tohoto typu čistírny minimální [3], [18].

5 Léčiva

Léčiva neboli humánní farmaka jsou syntetické nebo přírodní látky, sloužící k lékařské diagnostice, k léčbě a také prevenci nemocí. Použití léčiv může a nemusí být vázáno na lékařský předpis. Léčiva obsahují účinné látky, které slouží k léčbě např. nejrůznějších nemocí, bolestí a zánětů, a to jak u lidí, tak i zvířat [19].

Představují významný, avšak nesnadno detekovatelný zdroj znečištění. Některé účinné látky léčiv a hormonálních přípravků mohou mít vliv na necílové organismy ve vodním prostředí a na kvalitu surové vody určené pro výrobu pitné vody. Výskyt léčiv ve vodním prostředí se může pohybovat v rozsahu nanogramů na litr až po několik mikrogramů na litr [19], [20].

Čistírný odpadních vod nemusí zachytit zcela všechny koncentrace léků, mohou se proto dostat do povrchových vod. Humánní farmaka přecházejí do splaškových vod spolu s močí a fekáliemi. Chování těchto látek na odpadních čistírnách závisí především na jejich biologické rozložitelnosti a na jejich schopnosti rozpustit se v tucích, která ovlivňuje jejich sorpční schopnost na čistírenském kalu, jehož prostřednictvím se tak mohou dostávat do půdy, a dále pak i do zdrojů pitné vody. Musíme vzít v potaz i metabolity léčiv, které mohou být též škodlivé. Léčiva se do pitné vody mohou dostat mnoha různými způsoby, které jsou uvedeny v obrázku 7. [22].



5.1 Zdroje léčiv

- Lidská činnost
- Residua z farmaceutické výroby
- Residua z nemocnic
- Užívaná léčiva, zvláště antibiotika, steroidy
- Narkotika
- Zemědělství

Jedním ze způsobů aplikace účinných látek je perorální podání ve formě tablet či kapslí. Účinná látka je v těle následně částečně nebo zcela metabolizována a z těla vychází pouze z části ve formě původní látky nebo jejích metabolitů. Zdrojem mohou být i nepoužité léky, vyhozené nejčastěji po datu expirace, voda z výroby nelegálních drog nebo veterinární léčiva, která jsou částečně vylučována prostřednictvím exkrementů užitkových zvířat, které jsou poté využívány k výrobě hnojiv. Lze předpokládat, že i v současné době ještě stále nemalé procento lidí likviduje prošlé a nepotřebné léky prostřednictvím splachování do WC, které dále zvyšují koncentrace farmak v odpadních vodách [20], [23].

Jmenované zdroje patří k významně rizikovým pro životní prostředí.

6 Biologická aktivita léčiv

Farmaka jsou látky se značnou biologickou aktivitou, takže jejich dopad na prostředí můžeme považovat za významný i v koncentracích výrazně nižších, než jsou aktivní koncentrace v těle pacienta během léčby. Při vnitřním užití podléhají farmaka metabolismu příjemce. Vedle farmak jsou z lidského těla vylučovány formou polárních konjugátů (ledvinami, močí a stolicí, játry) také metabolity. Tyto konjugáty mají odlišné vlastnosti. Jedná se zejména o látky polárnějšího charakteru, které se v daném prostředí budou chovat odlišně než substance původní. Jak se konjugáty rozkládají, objevují se ve vodním prostředí postupně vyšší koncentrace původní látky. Mezi takové látky může patřit například prakticky rezistentní karbamazepin, nebo diklofenak s velmi nejistými úspěchy při čištění. Dermatologicky podávaná farmaka pronikají do těla přes kůži, jejich významná část se ale při mytí navrací nezměněná do odpadních vod. Z původních produktů se tedy v odpadních vodách, přitékajících do čistírny odpadních vod, objevují směsi látek, které jsou různorodé jak chemicky, tak fyzikálně. Velká část farmak a jejich metabolity jsou všudypřítomné, vykazují vysokou perzistenci a biokoncentraci v povrchových vodách. Velkou neznámou zůstává, zda kombinace nízkých koncentrací jednotlivých léčiv a jejich transformace v jiné produkty, může mít vliv na funkci ekosystémů [24], [25], [26].

6.1 Léčiva ve vodním cyklu

Většina léčivých látek je z lidského organismu vylučována do odpadních vod v hydrofilní polární formě. Účinnost odstranění u jednotlivých léčiv se podstatně liší. Parametry (biologické, chemické a fyzické), které ovlivňují degradaci léčiv, jsou mikrobiální aktivita, sorpce a resorpce, redoxní potenciál, teplota, pH a fotolýza. Po vyčištění odpadní vody je tato voda vypuštěna do vod povrchových, jako jsou u nás řeky, ve světě se může jednat i o moře. Při cestě řekami se koncentrace různí v závislosti na počtu výpustí čistíren odpadních vod, době

transportu, průběhu biodegradace a sorpce, obsahu organických látek, přítocích okolních vod a aktuálním průtokem. Podél řeky může docházet k průsakům do půdy, prostupu do podzemních vod a dále se farmaka mohou z řek dostávat postupně až do moří. Valná část farmak je z čistíren odpadních vod odbourávána s vysokou účinností, nicméně i malé koncentrace těchto látek mohou být pro organismy ve vodních ekosystémech významné. Efektivní odstraňování farmak z čistíren odpadních vod se liší dle typu látky a dle technických možností čistíren na úpravu splaškových vod. Rizika pro vodní organismy a pro člověka jsou v současné době, kvůli nízkým koncentracím těchto látek, standardními metodami hodnocení rizik neprokazatelná. Je na místě zmínit skutečnost, že kořenové čistírny lze výhodně použít v případě velmi nízkých vstupních koncentrací organických látek, tedy v situaci, kdy jsou klasické čistírny odpadních vod jen velmi obtížně použitelné [2], [27], [28].

Koncentrace léčivých přípravků ve vodách se pohybuje v širokém rozmezí. Ve vodách povrchových se koncentrace léčiv pohybuje v rozmezí od jednotek ng/l až do stovek ng/l. Koncentrace ve vodách splaškových a v odtocích z odpadních čistíren bývají vyšší. Léčiva, která se užívají více, se potom mohou vyskytovat ve vyšších koncentracích, a to v rozmezí desetin až jednotek µg/l (koncentrace ibuprofenu pak může být i přes 10 µg/l) [22].

Podle nedávných výzkumů je zřejmé, že antidepresiva, psychiatrická léčiva (benzodiazepiny) a antihistaminika mohou např. vyvolat změny chování u ryb v koncentracích od nízkých ng/l do nízkých µg/l, které jsou blízké koncentracím nalezeným v přírodních systémech. Ačkoli se zdá, že k ekologickým účinkům léčiv může dojít ve vodních systémech, v nichž dominuje přítok odpadních vod, účinky některých léčiv byly zjištěny pouze při vyšších koncentracích, které nejsou pro životní prostředí relevantní. Nedostatek studií využívajících behaviorální ukazatele ke zkoumání farmaceutických účinků na volně žijící živočichy proto ztěžuje vyvodit jakékoli obecné závěry týkající se ekologického dopadu léčiv nalezených ve vodních systémech. Dostupné studie ukazují, že různá léčiva mohou vyvolat podobné změny chování u různých druhů, ale byly také pozorovány účinky specifické pro lék i druh. Například aktivita i frekvence krmení byly ovlivněny antidepresivy, psychiatrickými léčivy a antihistaminiky, ale ne nutně stejným směrem mezi druhy nebo dokonce uvnitř druhů. Interpretovat výsledky je obtížné vzhledem k tomu, že vodní živočichové žijící v kontaminovaném prostředí jsou vystaveni širokému spektru léčiv, která by mohla vést k aditivním nebo neaditivním účinkům nebo dokonce vzájemně neutralizovat účinky. I proto je kromě použití standardizovaných ukazatelů chování třeba zkoumat účinky směsí léčiv, aby bylo možné lépe porozumět ekologickým účinkům na volně žijící živočichy [29].

6.2 Vybraná léčiva

Byla vybrána taková léčiva, která v současné době patří mezi nejužívanější, v případě léčiv vázaných na lékařský předpis k nejčastěji předepisovaným. Dalším kritériem pro výběr léčiv je přítomnost některých z nich na seznamu potenciálních látek znečišťujících povrchové vody, který vydala Evropská komise na základě doporučení JCR (Joint Research Centre) a souhlasu členských států. Dále se jedná o látky, které mohou negativně působit na vodní organismy a v neposlední řadě byla vybrána antibiotika, jejichž přítomnost ve vodě může způsobit antibiotickou rezistenci.

Tabulky níže shrnují základní chemicko-fyzikální vlastnosti vybraných analytů. Z tabulek je zřejmé, že se jedná o poměrně široké spektrum látek, kyselého i bazického charakteru, látky hydrofobní i hydrofilní, molekuly menší i větší, a dokonce je zde obsažena i jedna zwitterionická látka.

Tabulka 2. Vlastnosti vybraných analytů [30]

| Název | Vzorec | Molekulová hmotnost [g/mol] | Monoizotopická molekulová hmotnost [g/mol] |
|-----------------|-------------------------|--------------------------------|---|
| Atenolol | $C_{14}H_{22}N_2O_3$ | 266,341 | 266,163 |
| Azithromycin | $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ | 748,996 | 748,509 |
| Karbamazepin | $C_{15}H_{12}N_2O$ | 236,274 | 236,095 |
| Klarithromycin | $C_{38}H_{69}NO_{13}$ | 747,964 | 747,477 |
| Diklofenak | $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$ | 296,15 | 295,017 |
| Ibuprofen | $C_{13}H_{18}O_2$ | 206,285 | 206,131 |
| Sulfamethoxazol | $C_{10}H_{11}N_3O_3S$ | 253,28 | 253,052 |
| Trimethoprim | $C_{14}H_{18}N_4O_3$ | 290,323 | 290,138 |

Tabulka 3. Další vlastnosti vybraných analytů [30]

| Název | logD pH=2 | logD pH=7 | pKa | Rozpustnost [mg/ml] pH=2 | Rozpustnost [mg/ml] pH=7 |
|-----------------|--------------|--------------|---------|-----------------------------|-----------------------------|
| Atenolol | -2,82 | -2,14 | 9,6 | 713,49 | 713,49 |
| Azithromycin | -4,56 | -1,99 | 8,5 | 1 810,84 | 1 810,84 |
| Karbamazepin | 2,77 | 2,77 | 13,9 | 0,04 | 0,04 |
| Klarithromycin | -0,26 | 1,84 | 8,99 | 747,96 | 70,87 |
| Diklofenak | 4,25 | 1,37 | 4,15 | 0,02 | 15,8 |
| Ibuprofen | 3,84 | 1,71 | 5,3 | 0,06 | 8,37 |
| Sulfamethoxazol | 0,50 | 0,14 | 1,6/5,7 | 3,11 | 12,58 |
| Trimethoprim | -0,19 | 0,92 | 7,12 | 290,32 | 1,12 |

V tabulce 4. je uvedena účinnost některých vybraných léčiv na třech kořenových čistírnách s horizontálním podpovrchovým tokem. Účinnost odstranění je uvedena jak pro zimní, tak i pro letní období.

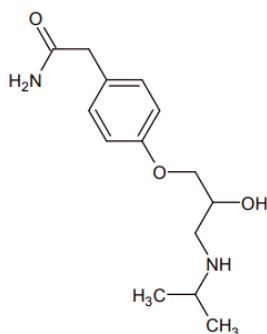
Tabulka 4. Účinnost odstranění některých vybraných léčiv na třech KČOV v ČR [31]

| Léčivo | Účinnost [%] | | | | | |
|-------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Čičenice | | Břehov | | Slavošovice | |
| | zimní období | letní období | zimní období | letní období | zimní období | letní období |
| Atenolol | 80 | 95 | 99 | 58 | N | N |
| Diklofenak | 73 | 52 | 48 | 17 | 94 | 95 |
| Ibuprofen | 74 | 95 | 90 | 92 | 90 | 99 |
| Trimetoprim | N | N | 91 | N | N | N |

6.2.1 Atenolol

Jedná se o bílý prášek, který je rozpustný ve vodě, chloroformu, ale těžko rozpustný v ethyletheru. Teplota varu atenololu se pohybuje v rozmezí 146–148 °C [32].

Tento syntetický derivát isopropylaminopropanolu se používá jako antihypertenzivní, hypotenzivní a antiarytmický přípravek. Lék užívaný jako beta-blokátor, který se primárně používá při léčbě vysokého krevního tlaku a bolesti na hrudníku, které jsou spojené se srdečními problémy. Dále je možné atenolol použít jako prevenci migrény a při léčbě určitých nepravidelných srdečních rytmi [33].

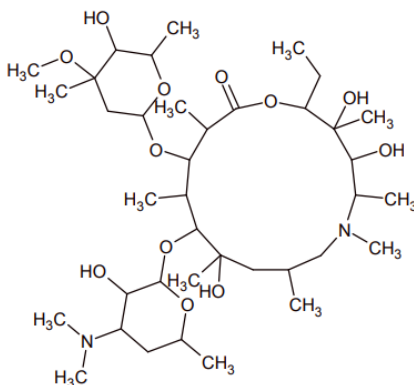


Obrázek 8. Struktura atenololu

6.2.2 Azithromycin

Jedná se o pevnou amorfnní látku, která je dobře rozpustná v ethanolu a v DMSO (dimethylsulfoxid) [34].

Azithromycin je semisyntetické makrolidové antibiotikum třídy azalidů. Používá se k léčbě některých bakteriálních infekcí, nejčastěji bakterií způsobujících infekce středního ucha, angíny, krční infekce, laryngitidy, bronchitidy, pneumonie a sinusitidy. Je také účinný proti určitým pohlavně přenosným infekčním chorobám [34].

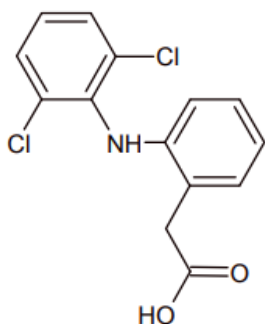


Obrázek 9. Struktura azithromycinu

6.2.5 Diklofenak

Diklofenak je bílá krystalická látka, která je mírně rozpustná ve vodě. Je dobře rozpustná v methanolu, avšak těžko rozpustná v acetonu [39].

Jedná se o derivát kyseliny fenyloctové, který patří do třídy neselektivních nesteroidních protizánětlivých léčiv (NSAID). Sodná sůl diklofenaku se dlouhodobě používá k léčbě akutní bolesti a zánětu a je účinná při různých akutních formách bolesti [40], [41].

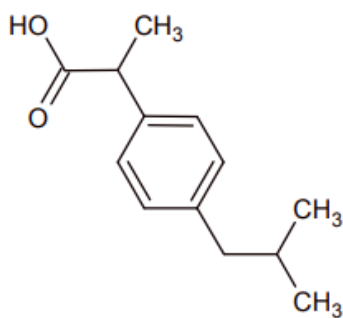


Obrázek 12. Struktura diklofenaku

6.2.6 Ibuprofen

Jedná se bezbarvou až bílou krystalickou látku, která je prakticky nerozpustná ve vodě, ale dobře rozpustná v alkoholech a snadno rozpustná ve většině organických rozpouštědel [42].

Jedná se o běžně používaný nesteroidní protizánětlivý lék. Ibuprofen je považován za jeden z nejbezpečnějších nesteroidních protizánětlivých léků a je obecně dobře snášen, ale přesto může vzácně způsobit klinicky zjevné a závažné akutní poškození jater. Ibuprofen se používá na tlumení bolestí, horečky a zánětů [42].

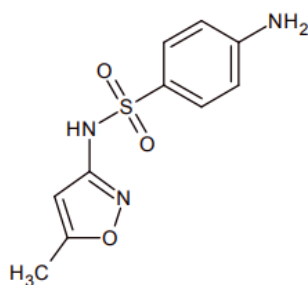


Obrázek 13. Struktura ibuprofenu

6.2.7 Sulfamethoxazol

Jedná se o bílou až lehce nažloutlou látku bez zápachu, která je prakticky nerozpustná ve vodě, avšak dobře rozpustná v acetonu a ve zředěných roztocích hydroxidu sodného a ve zředěných kyselinách [43].

Sulfamethoxazol je sulfonamidové bakteriostatické antibiotikum, které se nejčastěji používá v kombinaci s trimethoprimem. Sulfamethoxazol kompetitivně inhibuje dihydropteroát syntázu, která zabraňuje tvorbě kyseliny dihydropteroové. Kyselina dihydropteroová je prekurzorem kyseliny listové, která je nezbytná pro bakteriální růst [43].

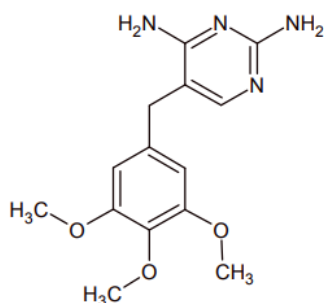


Obrázek 14. Struktura sulfamethoxazolu

6.2.8 Trimethoprim

Jedná se o bílou krystalickou látku bez zápachu, s nahořklou chutí, která je prakticky nerozpustná ve vodě, ale je rozpustná v N,N-dimethylacetamidu, methanolu a chloroformu [44].

Jedná se o antibiotikum, které se používá zejména při léčbě infekcí močového měchýře. Společně se sulfamethoxazolem tvoří fixní antibiotickou kombinaci, která je široce používána pro mírné až střední bakteriální infekce a jako profylaxe proti oportunním infekcím. Stejně jako jiné léky obsahující sulfonamid byla tato kombinace spojena se vzácnými případy klinicky zjevného akutního poškození jater [44].



Obrázek 15. Struktura trimethoprimu

7 Metody stanovení daných analytů

7.1 Extrakce na pevnou fázi (SPE)

Protože se v reálných vzorcích vody koncentrace zbytků léčiv pohybují v řádech $\mu\text{g/l}$ – ng/l , je nutno provést jejich zakoncentrování a odstranění látek, které by případně mohly rušit následná analytická stanovení. Často užívanou prekoncentrační metodou je extrakce z kapaliny na tuhou fázi neboli tzv. solid phase extraction (SPE). Tato extrakce se také využívá z důvodu přečištění vzorku, což může vést ke zjednodušení analýzy, současně přečištění ulehčuje přístroji, který není nutno tak často čistit [22], [45].

Při této extrakci proléváme značné objemové množství kapalného vzorku kolonkou naplněnou vhodným pevným adsorbentem, který na svém povrchu zachycuje, a tímto způsobem i zakoncentrovává, příslušný analyt v malém objemu pevného adsorbentu. Po extrakci veškerého analytu z velkého objemu vzorku na pevné fázi se kolonka promyje vhodným činidlem o malém objemu, které uvolní prekoncentrovaný analyt z pevného adsorbentu a vymyje jej do onoho malého objemu uvolňovacího činidla. SPE tedy slouží k zakoncentrování stanovované látky z velkého objemu kapalného vzorku do malého objemu vymývacího roztoku. Takto prekoncentrovaný analyt poté může být stanoven pomocí vhodné analytické metody jako je například kapalinová či plynová chromatografie, kapilární elektroforéza anebo může být stanoven také pomocí spektrofotometrie (v ultrafialové nebo viditelné oblasti) [45].

7.1.1 Kondicionování (předúprava) kolonky

Kolonku je nutno propláchnout daným rozpouštědlem (dochází k aktivaci pevné fáze pro interakci se vzorkem) a následně rozpouštědlem, které je podobné vzorku (úprava prostředí pro vlastní vzorek). Fáze C18: aktivace metanolem, úprava prostředí vodou a následuje vodný roztok vzorku [46].

7.1.2 Dávkování vzorku

Na základě druhu pevné fáze a vzorku dochází ke specifickým interakcím látek s pevnou fází. Žádaná skupina látek se selektivně sorbuje a nesorbované látky (matrice) procházejí volně kolonkou [46].

7.1.3 Promývání

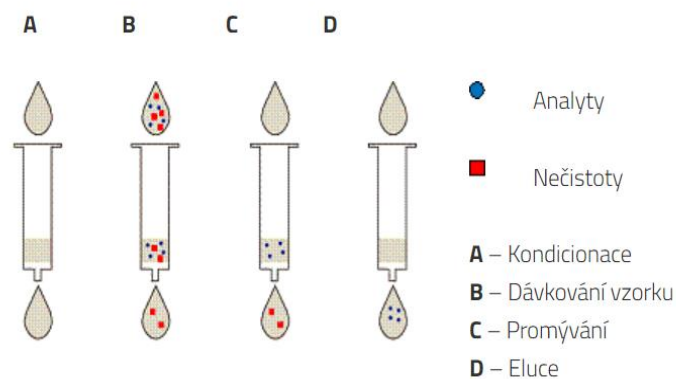
Promytí kolonky vhodným rozpouštědlem vede k vymytí zbytků matrice vzorku z kolonky, tzn. že požadované látky zůstanou sorbovány na pevné fázi [46].

7.1.4 Sušení

Pokud se použité eluční rozpouštědlo významně liší od promývacího roztoku, kolonku je nutno vysušit proudem inertního plynu, většinou bývá užíván dusík [46].

7.1.5 Eluce (vymývání)

Nakonec se kolonka promývá elučním rozpouštědlem, čímž dochází k selektivní desorpci žádaných látek z pevné fáze a k jejich vymytí z kolonky. Eluát je jímán a dále upravován, např. pro chromatografickou analýzu [46].



Obrázek 16. Schéma SPE [47]

7.2 Kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS)

V dnešní době je nejvíce rozšířenou technikou spojení plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Ta spojuje vysokou separační účinnost plynové chromatografie a důležité strukturní informace získané díky hmotnostní spektrometrii. Nevýhodou je, že ji nemůžeme použít při analýze méně těkavých sloučenin bez jejich chemické derivatizace. Právě díky této technice se přišlo na složitější spojení, a to na spojení kapalinové chromatografie s hmotností detekcí (HPLC(LC)-MS) [48].

Jedná se o techniku kombinující separační schopnost HPLC pro materiály s vysokou molekulární hmotností se schopností hmotnostního spektrometru selektivně detekovat a potvrzovat identitu molekul. Této techniky se nejvíce využívá například při testování potravin, ekologické analýze, farmaceutickém výzkumu, soudním lékařství [49].

Kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem využívá systému vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem, ovšem v bodě, kde kapalná mobilní fáze opouští kolonu, je kapalný vzorek stříkán z důvodu, aby vznikl mikroskopický aerosol. Aerosol se potom rychle odpařuje a uvolňuje ionizované molekuly analytu, které je pak možné separovat v hmotnostním spektrometru. Aerosolům s vysokým průtokem může prospět další rozptýlení nebo nebulizace s použitím vysokého průtoku inertního plynu, například dusíku [49].

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

8 Přístroje a pomůcky

- Přístroj pro přípravu milli-Q vody Millipore QGARD, Academic, Millipore, Německo
- Kapalinový chromatograf Agilent 1100 Series, Agilent Technologies, USA
- Kolona LUNA C18 délka 100 mm, vnitřní průměr 2,1 mm, velikost částic 3 μm , opatřena předkolonou SecurityGuard ULTRA Cartridges (UHPLC C18 2,1 mm), Phenomenex, USA
- Hmotnostní spektrometr Agilent Ion Trap 6320 LC/MS, Agilent Technologies, USA
- Infuzní pumpa kdS 9100, kdScientific
- Generátor dusíku Peak Scientific, Velká Británie
- Přístroj pro sušení pod dusíkem Evaterm, LABICOM s. r. o., ČR
- SPE extraktor SUPELCO a J. T. Baker, Německo
- Vakuová pumpa KNF LAB LABOPORT
- SPE kolonky – Oasis HLB 200 mg/6 ml, Waters, USA
- Filtry – stříkačkové nylonové filtry 0,45 μm , Nylon 66, průměr 47 mm, SUPELCO, USA
- Pasteurovy pipety
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky

Používaný software pro zpracování dat

- MS Excel 2019, MS Word 2019
- ChemSketch 2019
- Chemstation for LC 3D systems Rev. B.01.03-SR2
- 6300 Series TrapControl Version 6.2
- 6300 Series DataAnalysis Version 6.2

Použité chemikálie a standardy

Chemikálie:

- Kyselina mravenčí o čistotě $\geq 98 \%$, Sigma Aldrich
- Methanol – LC-MS CHROMASOLV®, Fluka Analytical
- Methanol – CHROMASOLV® for HPLC $\geq 99,9 \%$, Sigma Aldrich
- Milli-Q voda

Standardy:

- Atenolol – Sigma Aldrich, čistota $\geq 98 \%$
- Azithromycin – Sigma Aldrich, čistota $\geq 95 \%$
- Diclofenac – Supelco, čistota $\geq 98,5 \%$
- Ibuprofen – Supelco, čistota $\geq 98 \%$
- Carbamazepin – Supelco, čistota $\geq 99,0 \%$
- Clarithromycin – Sigma Aldrich, čistota $\geq 98 \%$
- Sulfamethoxazol – Supelco
- Trimethoprim – VETRANAL®

Plyn:

- Dusík – 4.7 Siad Czech spol. s. r. o.

Sledovaná matrice:

- Odpadní voda z kořenové čistírny odpadních vod v Dražovicích, odběr 500 ml odpadní vody do skleněných lahví na pěti různých částech kořenové čistírny – na přítoku, za usazovací nádrží, za horizontálním filtrem, za vertikálním filtrem a na odtoku.

9 Kořenová čistírna odpadních vod v Dražovicích

Kořenová čistírna v Dražovicích byla uvedena do provozu v roce 2000. Obsahuje tři kořenová pole, která čistí vodu od zhruba 930 obyvatel Dražovic. Splašková voda protéká poli, kořeny a bakterie na sebe vážou nečistoty a nežádoucí látky. Do místního potoka pak odtéká užitková voda [50].

Klasické kořenové čistírny jsou založeny na co nejjednodušším technickém provedení a uspořádání, kdy se jedná v podstatě o vyhloubenou jímku, a to přibližně jeden metr hluboké pole, které je odizolováno od podloží. Jímka bývá naplněna štěrkem, uvnitř jímky jsou vysázené mokřadní rostliny a přes ně protéká voda – jde tedy o horizontální uspořádání. Kořenová čistírna v Dražovicích byla koncipována přesně takovým způsobem, ale problémem byl amoniak. S odstraňováním amoniaku mají obecně tyto klasické kořenové čistírny problém. Proto byla v létě roku 2019 kořenová čistírna v Dražovicích zmodernizována. Konkrétně bylo zmodernizováno třetí kořenové pole, které je založeno na vertikálním principu čištění, kdy voda protéká vlhkým prostředím pískového charakteru [50].



Obrázek 17. Vertikální uspořádání



Obrázek 18. Stabilizační biologická nádrž



Obrázek 19. Odtok do Dražovického potoka

10 Příprava kalibrace

Byly připraveny roztoky kalibrace podle následujících tabulek. Všechny roztoky byly připravovány pomocí mikrostříkaček Hamilton s vhodně zvoleným objemem.

Tabulka 5. Roztoky k dispozici

| | Léčivo | Rozpouštědlo | Koncentrace c [$\mu\text{g/ml}$] |
|----------------------|-----------------|--------------|--------------------------------------|
| Individuální roztoky | Atenolol | MeOH | 1 000 |
| | Azithromycin | MeOH | 500 |
| | Diklofenak | MeOH | 1 000 |
| | Ibuprofen | MeOH | 1 000 |
| | Karbamazepin | MeOH | 1 000 |
| | Klarithromycin | MeOH | 1 000 |
| | Sulfamethoxazol | MeOH | 1 000 |
| | Trimethoprim | MeOH | 1 000 |

10.1 Směsný zásobní roztok ZR-1

Tabulka 6. Příprava směsného zásobního roztoku v methanolu

| | | |
|---|---------|-------------------|
| Z individuálních roztoků [ml] | 0,5 | 1 z azithromycinu |
| V_{roztoku} [ml] | 5 | |
| c_{roztoku} [$\mu\text{g/ml}$] | 100 | |
| c_{roztoku} [ng/ml] | 100 000 | |

10.2 Pracovní roztok PR-1

Tabulka 7. Příprava pracovního roztoku 1 v methanolu

| | |
|---|--------|
| Ze zásobního roztoku [ml] | 0,5 |
| V_{roztoku} [ml] | 5 |
| c_{roztoku} [$\mu\text{g/ml}$] | 10 |
| c_{roztoku} [ng/ml] | 10 000 |

10.3 Pracovní roztok PR-2

Tabulka 8. Příprava pracovního roztoku 2 v methanolu

| | |
|---|-------|
| Z pracovního roztoku 1 [ml] | 0,5 |
| V_{roztoku} [ml] | 5 |
| c_{roztoku} [$\mu\text{g/ml}$] | 1 |
| c_{roztoku} [ng/ml] | 1 000 |

10.4 Kalibrace

Byl namíchán roztok 50/50 MeOH/MQ. Následně byla připravena kalibrační řada podle tabulky.

Tabulka 9. Příprava kalibrační řady

| | c [ng/ml] | V _{roztoku} [ml] | V [ml] | V [μl] | |
|---|-----------|---------------------------|--------|--------|--------|
| 1 | 10 | 5 | 0,050 | 50 | z PR-2 |
| 2 | 25 | 5 | 0,125 | 125 | |
| 3 | 50 | 5 | 0,250 | 250 | |
| 4 | 100 | 5 | 0,050 | 50 | z PR-1 |
| 5 | 250 | 5 | 0,125 | 125 | |
| 6 | 500 | 5 | 0,250 | 250 | |

Roztoky léčiv byly odebírány vhodnými mikrostříkačkami Hamilton.

10.5 Kalibrační křivky jednotlivých léčiv

Byly sestaveny kalibrační křivky, které představují závislost plochy píků na koncentraci. Rozsah kalibrace byl zvolen v rozsahu 10–500 ng/ml.

Tabulka 10. Rovnice regrese kalibračních křivek jednotlivých léčiv

| Léčivo | Rovnice grafu | Hodnota spolehlivosti |
|-----------------|------------------------------------|-----------------------|
| Atenolol | $y = 165\,313,290x - 7\,429,451$ | $R^2 = 0,998\,985$ |
| Azithromycin | $y = 447\,135,403x + 209\,688,604$ | $R^2 = 0,997\,496$ |
| Diklofenak | $y = 44\,579,157x + 800,884$ | $R^2 = 0,999\,810$ |
| Ibuprofen | $y = 7\,100,051x + 121,901$ | $R^2 = 0,999\,938$ |
| Karbamazepin | $y = 141\,507,555x + 141\,874,010$ | $R^2 = 0,999\,880$ |
| Klarithromycin | $y = 52\,763,229x + 3\,875,604$ | $R^2 = 0,997\,776$ |
| Sulfamethoxazol | $y = 77\,292,807 + 75\,354,289$ | $R^2 = 0,999\,532$ |
| Trimethoprim | $y = 409\,856,884x + 157\,745,136$ | $R^2 = 0,998\,781$ |

Kalibrační křivky jednotlivých léčiv jsou přiloženy na konci bakalářské práce v přílohách.

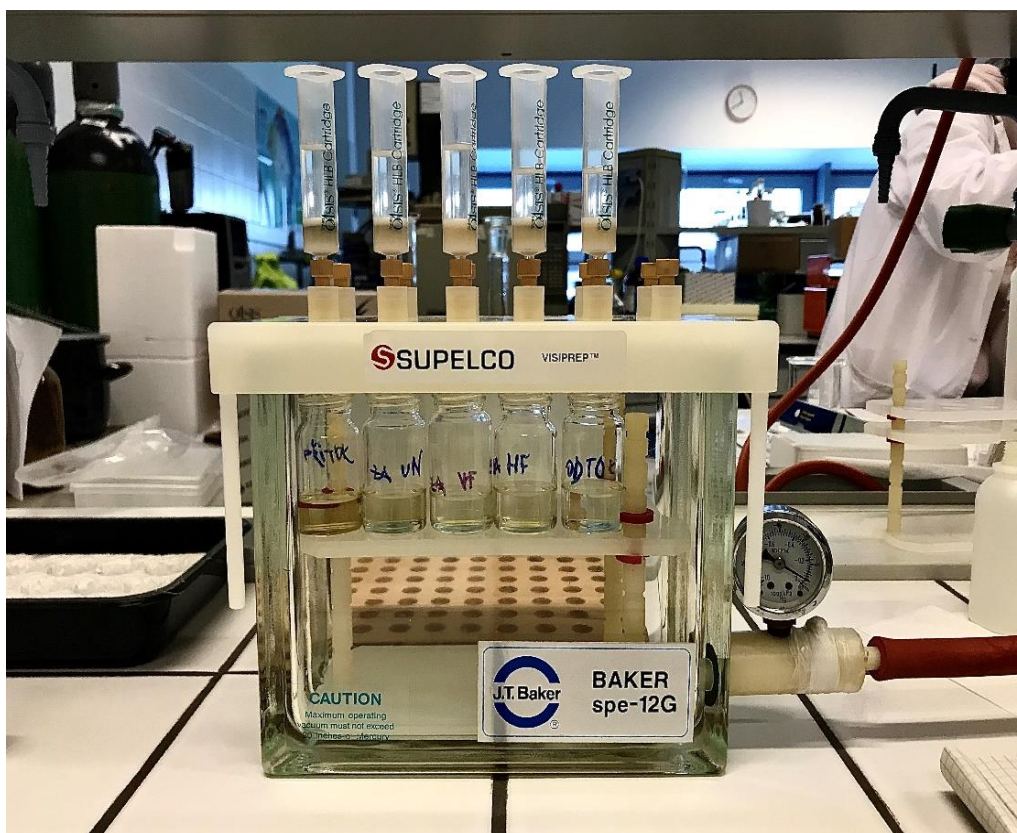
11 SPE – extrakce na pevnou fázi

Vzorky odpadní vody byly odebrány 10. března 2020 v Dražovicích ve spolupráci s Výzkumným ústavem vodohospodářským v Brně. Bylo odebráno pět vzorků na různých částech kořenové čistírny – na přítoku, za usazovací nádrží, za horizontálním filtrem, za vertikálním filtrem a na odtoku. Následně byly vzorky přefiltrovány a uskladněny v lednici. Z důvodu koronavirové krize byly zpracovány pomocí SPE až na začátku května, a to následujícím způsobem.

Vzorky byly před zahájením SPE opět přefiltrovány a následně bylo odměřeno 200 ml jednotlivých vzorků do kádinek.

11.1 Postup

Nejprve byla provedena kondicionace 5 ml MeOH (asi 1 ml/min). Po kondicionaci přišla na řadu ekvilibrace 5 ml MQ vody (opět asi 1 ml/min). Následně byly nanášeny jednotlivé vzorky rychlostí přibližně 5 ml/min. Po nanesení vzorků byly kolonky promyty 5 ml MQ vody a následně 1 ml 5% MeOH v MQ. Po promytí následovalo sušení ve vakuu po dobu asi 30 minut. V dalším kroku byla provedena eluce, a to dvakrát 5 ml MeOH. Po eluci následovalo sušení pod dusíkem, a to do doby úplného odpaření. Po vysušení následovalo rozpuštění v 1 ml 50/50 MeOH/MQ. Poté došlo k filtraci pomocí PP stříkačky a nylonového filtru (0,45 nebo 0,22 nm) do chromatografických vialek. Nakonec byly roztoky analyzovány na LC-MS.



Obrázek 20. Aparatura na SPE

12 LC-MS – kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí

Vzorky odpadní vody zpracované pomocí SPE a kalibrační roztoky byly proměřeny na LC-MS za podmínek uvedených v následujících tabulkách.

12.1 Chromatografické podmínky

Tabulka 11. Podmínky HPLC

| | |
|---------------------|----------------------|
| Mobilní fáze | C: 5 % MeOH |
| | D: 95 % 0,01 M HCOOH |
| Nástřik | 5 µl |
| Průtok mobilní fáze | 0,350 ml/min |
| Teplota kolony | 40 °C |
| Délka analýzy | 23 min |

Tabulka 12. Průběh gradientu mobilní fáze

| Čas [min] | C [%] | D [%] |
|-----------|-------|-------|
| 0,5 | 5 | 95 |
| 10 | 95 | 5 |
| 15 | 95 | 5 |
| 16 | 5 | 95 |

Tabulka 13. Podmínky MS

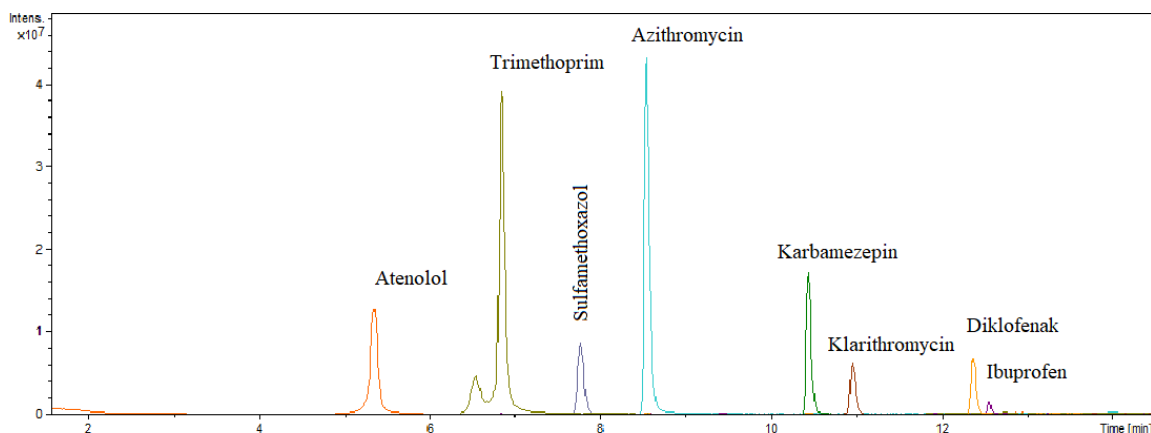
| | |
|------------------------|-------------|
| Tlak zmlžovače | 35 psi |
| Průtok sušícího plynu | 12 l/min |
| Teplota sušícího plynu | 350 °C |
| Ionizační mód | pozitivní |
| Scan | 100–800 m/z |

13 Výsledky a diskuze

13.1 Výsledky z LC-MS

Tabulka 14. Retenční časy vybraných léčiv a jejich charakteristické hmoty

| Léčivo | Retenční čas [min] | m/z | m/z ISTD |
|-----------------|--------------------|-----|----------|
| Atenolol | 5,4 | 267 | 274 |
| Azithromycin | 8,6 | 375 | - |
| Diklofenak | 12,3 | 296 | 302 |
| Ibuprofen | 12,5 | 161 | 302 |
| Karbamazepin | 10,4 | 237 | 247 |
| Klarithromycin | 10,9 | 749 | 752 |
| Sulfamethoxazol | 7,8 | 254 | 258 |
| Trimethoprim | 6,8 | 291 | 300 |



Obrázek 21. Chromatogram vybraných léčiv

Metoda SPE byla nejprve vyzkoušena pouze na třech vzorcích destilované vody, kdy bylo odměřeno vždy 200 ml destilované vody, do které bylo následně přidáno 30 μ l PR-1 o koncentraci 10 μ g/ml.

Tabulka 15. Teoretická koncentrace oproti výsledné koncentraci v jednotlivých roztocích zkušební SPE

| Léčivo | Očekávaná koncentrace ve všech vzorcích [ng/ml] | Výsledná koncentrace [ng/ml] | | |
|-----------------|---|------------------------------|----------|----------|
| | | Vzorek 1 | Vzorek 2 | Vzorek 3 |
| Atenolol | 300 | 381,29 | 359,12 | 372,08 |
| Azithromycin | 300 | 107,23 | 92,16 | 78,85 |
| Diklofenak | 300 | 338,57 | 340,77 | 208,73 |
| Ibuprofen | 300 | 247,36 | 254,61 | 254,10 |
| Karbamazepin | 300 | 223,15 | 193,81 | 215,57 |
| Klarithromycin | 300 | 184,66 | 174,67 | 180,80 |
| Sulfamethoxazol | 300 | 246,90 | 206,12 | 213,76 |
| Trimethoprim | 300 | 294,05 | 259,25 | 277,38 |

Tabulka 16. Účinnost zkušební SPE

| Léčivo | Účinnost [%] | | | Průměr [%] |
|-----------------|--------------|----------|----------|------------|
| | Vzorek 1 | Vzorek 2 | Vzorek 3 | |
| Atenolol | 127,1 | 119,7 | 124,0 | 123,6 |
| Azithromycin | 35,7 | 30,7 | 26,3 | 30,9 |
| Diklofenak | 112,9 | 113,6 | 69,6 | 98,7 |
| Ibuprofen | 82,5 | 84,9 | 84,7 | 84,0 |
| Karbamazepin | 74,4 | 64,6 | 71,9 | 70,3 |
| Klarithromycin | 61,6 | 58,2 | 60,3 | 60,0 |
| Sulfamethoxazol | 82,3 | 68,7 | 71,3 | 74,1 |
| Trimethoprim | 98,0 | 86,4 | 92,5 | 92,3 |

Účinnost u některých analytů je nižší, protože se jedná o multireziduální analýzu. Není tedy možné zajistit, aby metoda fungovala na 100 % u každého analytu. Bylo proto nutné vybrat vhodný kompromis. Účinnost SPE byla testována pouze na fortifikované vodě bez přídavku ISTD, což mohlo způsobit, že v několika případech vyšla účinnost nad 100 %.

Následující výsledky jsou výsledky pro reálné vzorky – vzorky odpadní vody.

Tabulka 17. Výsledky SPE pro vzorky odpadní vody

| Léčivo | Koncentrace [ng/ml] | | | | |
|-----------------|---------------------|---------------------|--------------------------|------------------------|---------|
| | Přítok | Za usazovací nádrží | Za horizontálním filtrem | Za vertikálním filtrem | Odtok |
| Atenolol | N | 38,937 | N | N | N |
| Azithromycin | N | 19,977 | N | 12,506 | N |
| Diklofenak | 122,775 | 114,436 | 134,623 | 189,216 | 99,111 |
| Ibuprofen | 1 156,730 | 156,323 | 196,704 | 235,552 | 190,146 |
| Karbamazepin | 58,869 | 52,568 | 48,620 | 38,920 | 40,890 |
| Klarithromycin | N | 252,782 | 52,977 | 157,866 | 42,690 |
| Sulfamethoxazol | 77,107 | 151,333 | N | 63,260 | 27,017 |
| Trimethoprim | N | 27,245 | N | N | N |

Tabulka 18. Výsledky SPE pro vzorky odpadní vody – přepočet koncentrace na µg/l

| Léčivo | Koncentrace [µg/l] | | | | |
|-----------------|--------------------|---------------------|--------------------------|------------------------|---------|
| | Přítok | Za usazovací nádrží | Za horizontálním filtrem | Za vertikálním filtrem | Odtok |
| Atenolol | N | 0,194 9 | N | N | N |
| Azithromycin | N | 0,099 9 | N | 0,062 5 | N |
| Diklofenak | 0,113 9 | 0,572 2 | 0,673 1 | 0,946 1 | 0,495 6 |
| Ibuprofen | 5,783 7 | 0,781 6 | 0,983 5 | 1,177 8 | 0,950 7 |
| Karbamazepin | 0,294 3 | 0,262 8 | 0,243 1 | 0,194 6 | 0,204 5 |
| Klarithromycin | N | 1,263 9 | 0,264 9 | 0,789 3 | 0,213 5 |
| Sulfamethoxazol | 0,385 5 | 0,756 7 | N | 0,316 3 | 0,135 1 |
| Trimethoprim | N | 0,136 2 | N | N | N |

Účinnost čištění nebylo možné vyhodnotit z důvodu nedostatku vzorků k porovnání. Vzorky byly odebírány v jednu dobu, a jelikož se voda v jednotlivých částech čistírny určitou dobu zdržuje, nebyla by účinnost vypovídající, neboť voda, kterou jsme odebrali na přítoku, není ta samá voda následně na odtoku. Dne 10. března 2020 bylo odebráno pět vzorků při standardním dlouhodobém průměrném průtoku 2,2 l/s. Doba zdržení vody v části mechanického předčištění (lapák písku a šterbinová nádrž) je cca dvě hodiny, v umělém mokřadu s horizontálním průtokem cca 1,6 dne, v umělém mokřadu s vertikálním průtokem zatím neproběhlo měření reálné doby průtoku, ale odhaduje se na cca jeden den, a nakonec v dočišťovací nádrži se voda zdržuje cca tři dny. Informace o době zdržení vody v jednotlivých částech čistírny byly poskytnuty Ing. Milošem Rozkošným, Ph.D. z Výzkumného ústavu

vodohospodářského T. G. Masaryka v Brně. Byla tedy vyhodnocena jen koncentrace v různých částech kořenové čistírny a z výsledků je zřejmé, že určité množství léčiv do vod putuje.

Ve vzorcích odpadní vody byl nejlépe detekován diklofenak, ibuprofen a karbamazepin. Tato léčiva byla detekována ve všech pěti částech kořenové čistírny, na rozdíl od atenololu, azithromycinu a trimethoprimu, které nebylo možné tak snadno detekovat. Tato léčiva se objevila pouze v některých částech kořenové čistírny.

I přesto, že se jedná pouze o jeden odběr, je z tabulky zjevné, že koncentrace obecně klesají. V některých případech je koncentrace vyšší než na přítoku, například v případě sulfamethoxazolu za usazovací nádrží. Možným důvodem nárůstu koncentrace je skutečnost, že může docházet k přeměně metabolitu zpět na jeho primární formu. Toto označujeme jako dekonjugaci, ke které dochází především vlivem působení bakterií *E. coli*, které jsou v odpadních vodách často přítomny [49]. Toto však může být způsobeno i výkyvem koncentrací na přítoku.

Nejvyšší koncentrace byla zaznamenána u ibuprofenu, kdy jeho koncentrace na přítoku byla téměř 5,8 µg/l. Důvodem je především jeho značná spotřeba, protože ibuprofen je složkou mnoha oblíbených volně prodejných léčiv, která jsou používána nejen proti bolesti, ale i proti zánětlivým a horečnatým onemocněním či stavům (distribuční názvy např. Ibalgin, Nurofen, Brufen, Ibumax, APO-Ibuprofen atd.).

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo vypracovat literární rešerši zaměřenou na problematiku výskytu a odstranění mikropolutantů na kořenových čistírnách odpadních vod. V teoretické části práce je vysvětlen princip fungování kořenové čistírny odpadních vod, je vysvětleno, čím je kořenová čistírna tvořena, jaké druhy kořenových čistíren odpadních vod známe a také je uvedeno porovnání výhod a nevýhod kořenových čistíren oproti čistírnám mechanickým. Dále je věnována pozornost vegetaci užívané v kořenových čistírnách a v neposlední řadě také léčivům ve vodním cyklu, konkrétním vybraným analytům a metodám jejich stanovení.

Zjednodušeně lze říci, že kořenové čistírny fungují tak, že odpadní voda je potrubím přivedena do umělého mokřadu, tvořeného specifickými rostlinami, drobným kamením, popř. štěrkem. Za pomoci mikroorganismů a bakterií, které žijí ve štěrku a na kořenech rostlin, dochází k samotnému čištění vody. Jedná se o poměrně zdlouhavý proces, kdy se voda v čistírně zdrží několik dní, než ji opustí. Na druhou stranu se jedná o proces poměrně nenákladný. Pro kvalitní čištění je nezbytné před kořenovou čistírnu předřadit septik nebo usazovací nádrž, u obecních čistíren, kam se svádí i odpad z komunikací, je potřeba odfiltrovat písek a štěrk z posypů, aby nedošlo k zanesení čistírny. Namísto septiku se pro obce jeví výhodnější šterbinová nádrž. V podstatě jedinými provozními náklady se tak stávají náklady na pracovní sílu, jejímž úkolem je pravidelná kontrola předčištění, výšky vodní hladiny a péče o mokřadní rostliny.

Přes mýty a polopravdy, které o kořenových čistírnách odpadních vod kolují, jsou tyto plnohodnotným řešením pro nakládání s odpadními vodami. A to nejen pro domácnosti, ale i pro obce. Jde nejen o řešení přírodní, ale i ekonomické a estetické. Např. pro čtyřčlennou rodinu potřebuje kořenová čistírna plochu jen kolem dvaceti metrů čtverečních. V současné době ale v České republice funguje bezproblémově již přes dvacet let i největší kořenová čistírna pro více než patnáct set obyvatel ve Spáleném Poříčí (zde činí plocha kořenových polí cca pět tisíc metrů čtverečních). V současné době je v České republice v provozu okolo dvou set velkých kořenových čistíren pro obce a přibližně stejný počet menších čistíren (především pro rodinné domy).

Experimentální část práce se týká samotného odběru a zpracování vzorků odpadní vody. Odpadní voda byla odebrána z kořenové čistírny v Dražovicích (okres Vyškov). Odběry byly provedeny po domluvě a za pomoci Výzkumného ústavu vodohospodářského T. G. Masaryka v Brně a bylo odebráno celkem pět vzorků odpadní vody na pěti různých částech čistírny, a to na přítoku, za usazovací nádrží, za vertikálním filtrem, za horizontálním filtrem a na odtoku. Kvůli vyhodnocení účinnosti čištění bylo ve spolupráci s Výzkumným ústavem vodohospodářským T. G. Masaryka plánováno několik odběrů. První odběr proběhl dne 10. března 2020. V důsledku usnesení vlády České republiky ze dne 12. března 2020, kterým byl vyhlášen nouzový stav z důvodu ohrožení zdraví, nebylo možno v práci a odběrech pokračovat. Po malém rozvolnění nouzového stavu byly vzorky na počátku května zpracovány pomocí metody SPE a následně byly proměřeny na LC-MS. Metoda LC-MS poskytla koncentraci vybraných analytů v daných pěti částech kořenové čistírny. Ovšem účinnost čištění nebyla stanovena, neboť voda, která byla odebrána na přítoku, nebyla ta samá voda, která byla odebrána následně na odtoku. Byly tedy zaznamenány pouze koncentrace v oněch pěti částech

kořenové čistírny odpadních vod. Z odtoku je patrné, že malé koncentrace léčiv se do vod dostávají.

Přestože byla přítomnost reziduí farmak ve vodě prokázána, nebyl dosud prokázán jejich negativní vliv na lidské zdraví. Dostupné studie ukazují, že množství léčiv, které se do vod dostává, je zanedbatelné v porovnání s tím, jaké množství léků užívají lidé dobrovolně, ať již kvůli subjektivním potížím či léčbě nařízené lékaři. Zcela odlišná je situace např. u vodních organismů, kde farmaka způsobují živým organismům poruchy nejen vývojové, ale i reprodukční, včetně poruch sexuálního chování. Vzhledem k tomu, že data zveřejněná Českým statistickým úřadem však potvrzují, že spotřeba léčiv neustále vzrůstá (např. v roce 2017 činila spotřeba léčiv v Kč téměř 83 miliard, což je o 11 miliard Kč více, než spotřeba léčiv v roce 2013), je nutné se rezidui farmak ve vodách intenzivně zabývat a snažit se mírnit jejich dopad na prostředí a zejména živé organismy. Dle dosavadních zjištění se kořenové čistírny odpadních vod jeví jako vhodný nástroj.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Vodohospodářské technicko-ekonomické informace [online]. Praha, 2010, 52(2) [cit. 2020-04-09]. ISSN 0322-8916. Dostupné z:
http://www.vuv.cz/files/pdf/edicni_cinnost/vtei/vtei_2010_2.pdf
- [2] Svoboda, J., Fuksa, J.K., Matoušová, L., Schönbauerová, L., Svobodová, A., Váňa, M., Šťastný, V., 2009. Léčiva a čistírny odpadních vod – možnosti odstraňování a reálná data, Vodní hospodářství 59 (4), 9-12.
- [3] Vymazal, J., 2004. Kořenové čistírny odpadních vod, ENKI Třeboň, 14.
- [4] MLEJNSKÁ, Eva, Miloš ROZKOŠNÝ a Dana BAUDIŠOVÁ. Extenzivní způsoby čištění odpadních vod. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T.G. Masaryka, 2009. ISBN 978-80-85900-92-7.
- [5] MLEJNSKÁ, Eva, Miloš ROZKOŠNÝ a Dana BAUDIŠOVÁ. Optimalizace provozu a zvýšení účinnosti čištění odpadních vod z malých obcí pomocí extenzivních technologií. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T.G. Masaryka, 2015. ISBN 978-80-87402-44-3.
- [6] Vegetační kořenové čistírny. In: TZB-info [online]. Brno: Topinfo s.r.o, 2013 [cit. 2020-03-14]. Dostupné z: <https://voda.tzb-info.cz/likvidace-odpadnich-vod/10058-vegetacni-korenove-cistirny>
- [7] ŠÁLEK, Jan. Přírodní způsoby čištění odpadních vod. Brno: PC-DIR, 1995. ISBN 80-214-0712-3.
- [8] Mokřady. *Naše mokřady* [online]. Český svaz ochránců přírody, 2014 [cit. 2019-04-21]. Dostupné z: <http://nasemokradky.cz/o-mokradech/>
- [9] Jan Vymazal: Kořenové čistírny mají výrazně nižší náklady na provoz. Ekolist.cz [online]. BEZK, 2012 [cit. 2019-04-22]. Dostupné z:
<https://ekolist.cz/cz/publicistika/nazory-a-komentare/jan-vymazal-korenove-cistirny-maji-vyrazne-nizsi-naklady-na-provoz>
- [10] Čistička [online]. [cit. 2019-04-21]. Dostupné z: <https://www.cisticka.info/potrebuji-chci-cisticku/rosliny-pro-korenovou-cisticku/>
- [11] Rákos obecný. In: Biologie [online]. Uherské Hradiště: Petr Horčíčko, Ivo Lysoněk, 2004 [cit. 2020-04-08]. Dostupné z:
https://www.guh.cz/edu/bi/biologie_rosliny/html04/foto_043.html
- [12] Chrastice rákosovitá. In: Lóže u Zeleného Slunce [online]. Jihlava: LUZS.CZ, 2019 [cit. 2020-04-08]. Dostupné z: <http://www.luzs.cz/chrastice-rakosovita-phalaris-arundinacea.html>
- [13] Orobinec širokolistý. In: Voda a ryby [online]. Praha: Marek Šlapák, Ing.Ivan Bílý, c2009 [cit. 2020-04-08]. Dostupné z:
<https://www.rybsvaz.cz/zu/slides/Orobinecsirokolisty.html>
- [14] Skřípenec jezerní. In: Voda a ryby [online]. Praha: Marek Šlapák, Ing.Ivan Bílý, c2009 [cit. 2020-04-08]. Dostupné z: <https://www.rybsvaz.cz/zu/slides/Skripinecjezerni.html>

- [15] Kořenovky. *Kořenovky.cz* [online]. 2019 [cit. 2019-04-21]. Dostupné z: <http://www.korenova-cisticka.cz/o-korenovkach/fungovani/Korenova-cisticka%E2%80%93korenova-cistirna%E2%80%93rostliny-pro-korenovou-cisticku.html>
- [16] Kosatec žlutý. In: Voda a ryby [online]. Praha: Marek Šlapák, Ing.Ivan Bílý, c2009 [cit. 2020-04-08]. Dostupné z: <https://www.rybsvaz.cz/zu/slides/Kosateczlutý.html>
- [17] Čištění odpadních vod v kořenových čistírnách. Odpady-online [online]. Praha: Profi Press s. r. o. Moravio, 2003 [cit. 2019-04-22]. Dostupné z: <https://www.odpady-online.cz/cistení-odpadních-vod-v-kořenových-cistírnách/>
- [18] Kořenové čistírny odpadních vod. Kcov-rostliny [online]. Spálené Poříčí [cit. 2019-04-22]. Dostupné z: <http://www.kcov-rostliny.cz/KCOV.php>
- [19] Pharmaceuticals in Drinking-water. In: Who.int [online]. Switzerland: World Health Organization, c2011 [cit. 2020-04-11]. Dostupné z: https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/pharmaceuticals_20110601.pdf
- [20] Farmaka našich vod. In: Povodí Vltavy [online]. Praha, 2014 [cit. 2019-04-22]. Dostupné z: <http://www.pvl.cz/>
- [21] WANNER, Jiří. Problematika mikropolutantů ve vodním prostředí: Možné přístupy a zkušenosti z ČOV v zahraničí. In: Seminář: Problematika mikropolutantů při čištění odpadních vod a při úpravě vody na vodu pitnou. 2016.
- [22] Šíbllová, D., Biela, R. Odstraňování farmak ze zdrojů pitné vody. Vodovod.info-vodárenský informační portál [online]. 16.4.2019, 04/2019, [cit. 2020-04-09]. Dostupné z: <http://www.vodovod.info/index.php/clanky/421-odstranovani-farmak-ze-zdroju-pitne-vody#.XqF2rGYzbIV>. ISSN 1804-7157.
- [23] Kotyza, J., Soudek, P., Kafta, Z., Vaněk, T., 2009. Léčiva – „Nový“ Environmentální Polutant, Chemické listy 103, 540-547.
- [24] Fuksa, J.K., Váňa, M., Wanner, F., 2010. Znečištění povrchových vod farmaky a možnosti jejich nálezu ve zdrojích pitné vody, Říhová, J.-Ambrožová J. (ed.) Vodárenská biologie 2010, Praha, Ekomonitor, 186-190.
- [25] Váňa, M., Wanner, F., Matoušová, L., Fuksa, J.K., 2010. Možnost odstraňování vybraných specifických polutantů v ČOV, VTEI 52(2), 1-3.
- [26] Daughton, C.G., Ternes, T.A., 1999. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change? Environ health perspect 107 (suppl 6), 907-938
- [27] Conkle, J.L., White, J.R., Metcalfe, C.D., 2008. Reduction of pharmaceutically active compounds by a lagoon wetland wastewater treatment system in Southeast Louisiana. Chemosphere 73, 1741-1748.
- [28] Vymazal, J., 2008. Využití umělých mokřadů pro čištění odpadních vod z malých zdrojů znečištění, Sb. konf. Decentralizované nakládání s odpadními vodami, ARDEC, s.r.o., Brno, 61-70.

- [29] BRODIN, Tomas, Susanna PIOVANO, Jerker FICK, Jonatan KLAMINDER, Martina HEYNEN a Micael JONSSON. Ecological effects of pharmaceuticals in aquatic systems—impacts through behavioural alterations. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* [online]. 2014, 369(1656) [cit. 2020-07-12]. DOI: 10.1098/rstb.2013.0580. ISSN 0962-8436. Dostupné z: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.2013.0580>
- [30] National Center for Biotechnology Information. PubChem [online]. USA: U.S. National Library of Medicine, 2004 [cit. 2020-03-16]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [31] Occurrence, removal and environmental risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in rural wastewater treatment wetlands. *Science of the Total Environment* [online]. 1 October 2016n. 1., (566-567), 1660-1669 [cit. 2020-06-22]. ISSN 0048-9697. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716312426>
- [32] Atenolol. Chemical Book [online]. ChemicalBook, c2017 [cit. 2020-04-22]. Dostupné z: https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_cb3753116.htm
- [33] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Atenolol, CID=2249, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Atenolol>
- [34] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Azithromycin, CID=447043, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Azithromycin>
- [35] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Carbamazepine, CID=2554, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Carbamazepine>
- [36] Carbamazepine. DrugBank [online]. Canada: OMx Personal Health Analytics, c2020 [cit. 2020-06-05]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00564>
- [37] Gastrointestinal Endoscopy. Croatia: In Tech, c2011. ISBN 978-953-307-385-9.
- [38] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Clarithromycin, CID=84029, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Clarithromycin>
- [39] Diclofenac. DrugBank [online]. Canada: OMx Personal Health Analytics, c2020 [cit. 2020-06-05]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00586>
- [40] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Diclofenac, CID=3033, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac>
- [41] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Diclofenac sodium, CID=5018304, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac-sodium>
- [42] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Ibuprofen, CID=3672, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ibuprofen>
- [43] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Sulfamethoxazole, CID=5329, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sulfamethoxazole>
- [44] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Trimethoprim, CID=5578, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Trimethoprim>
- [45] Extrakce na pevné fázi. In: <https://www.natur.cuni.cz/> [online]. Praha: Přírodovědecká fakulta Univerzita Karlova, 2012 [cit. 2020-03-16]. Dostupné z: https://web.natur.cuni.cz/~analchem/pprakt/spf_fe.pdf

- [46] Web.natur.cuni [online]. Praha: Jana Sobotníková, 1996 [cit. 2019-11-18]. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/extrakce.pdf>
- [47] Spotřební materiál a laboratorní vybavení [online]. Olomouc: HPST, s.r.o. provozovna, c2020 [cit. 2020-06-03]. Dostupné z: <https://www.labicom.cz/produkty/spotrebni-material/priprava-vzorku-prislusenstvi/spe-solid-phase-extraction/spe-kolonky>
- [48] HOLČAPEK, M., JANDERA, P.: Spojení kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (HPLC/MS). Chemické listy, 1998, vol. 92, pp. 278-286.
- [49] Air products [online]. Děčín: Air Products and Chemicals, c1996-2020 [cit. 2020-04-20]. Dostupné z: <http://www.airproducts.cz/industries/Analytical-Laboratories/analytical-lab-applications/product-list/liquid-chromatography-with-mass-spectrometer-lc-ms-analytical-laboratories.aspx?itemId=BA1AEFB4DC584D8495B390A4877D0387>
- [50] V Dražovicích na Vyškovsku mají vylepšenou kořenovou čistírnu. In: České noviny [online]. Praha: ČTK, 2019, 2.7. 2019 [cit. 2020-06-03]. Dostupné z: <https://www.ceskenoviny.cz/zpravy/v-drazovicich-na-vyskovsku-maji-vylepsenou-korenovou-cistirnu/1773990>

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BSK₅ – biochemická spotřeba kyslíku za 5 dní

ČR – Česká republika

DMSO – dimethylsulfoxid

HPLC – high performance liquid chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)

CHSK_{Cr} – chemická spotřeba kyslíku dichromanem draselným

KČOV – kořenová čistírna odpadních vod

LC-MS – kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (liquid chromatography – mass spectrometry)

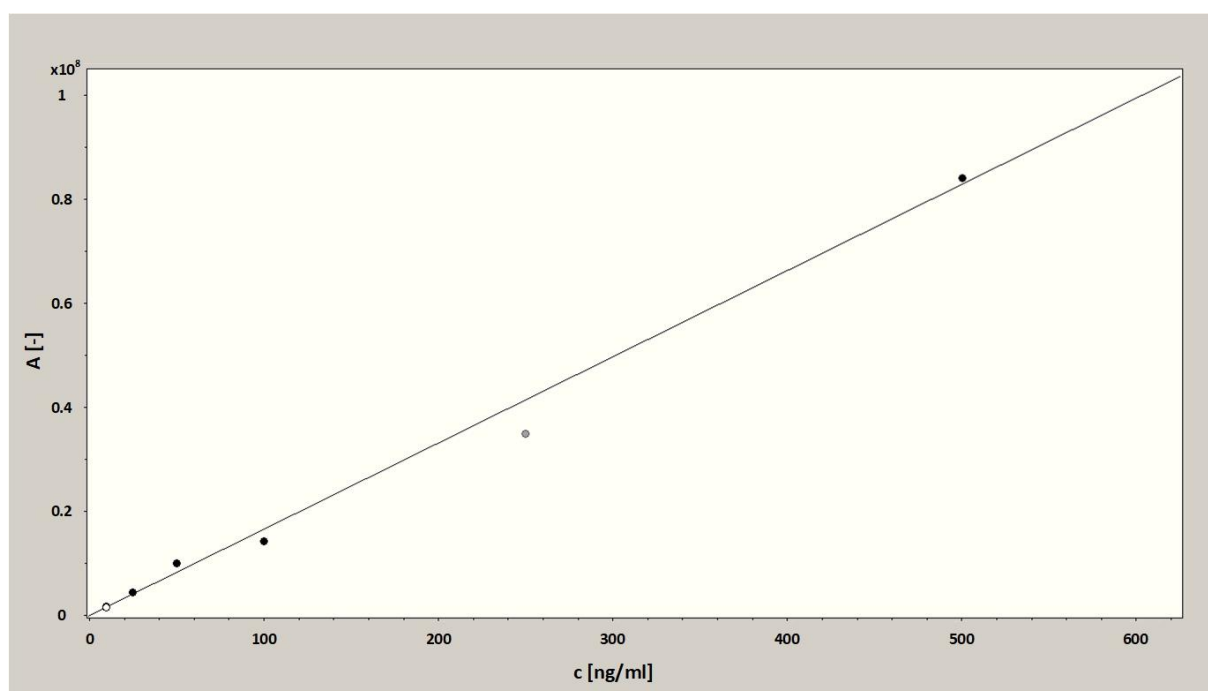
MQ – Milli-Q – ultračistá voda

N – nedetekováno

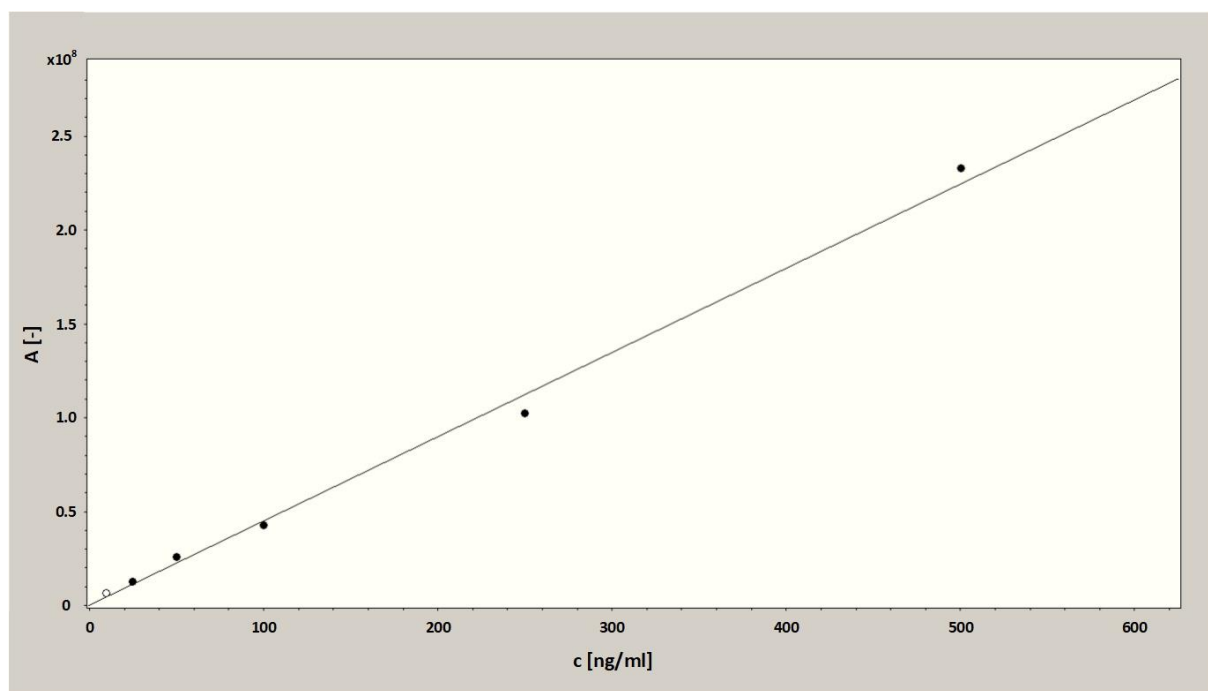
NSAID – nonsteroidal anti-inflammatory drugs (nesteroidní protizánětlivá léčiva)

SPE – solid phase extraction (extrakce na pevnou fázi)

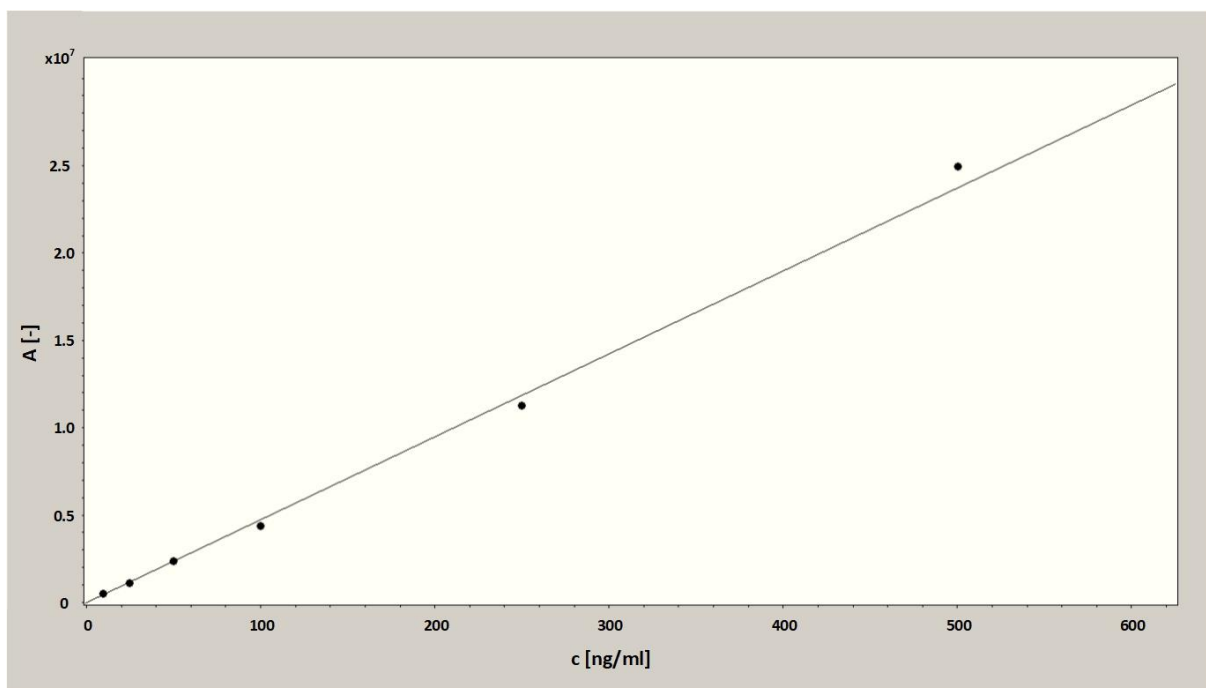
PŘÍLOHY



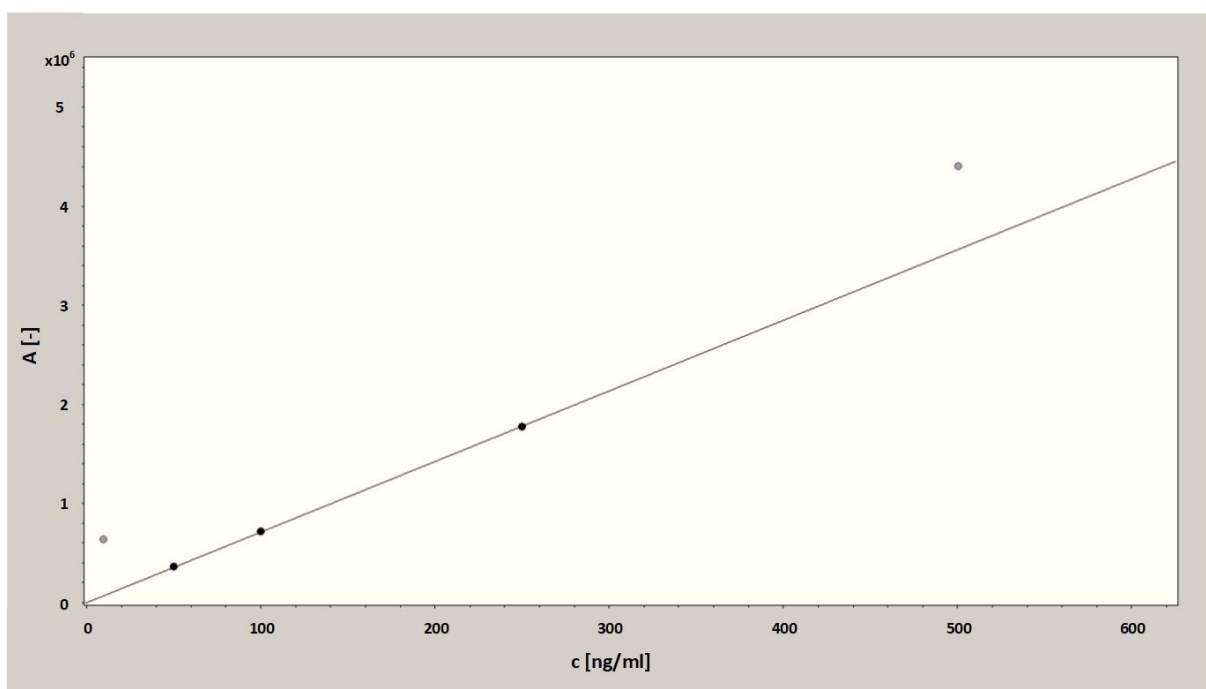
Obrázek 22. Kalibrační křivka atenololu [QuantAnalysis]



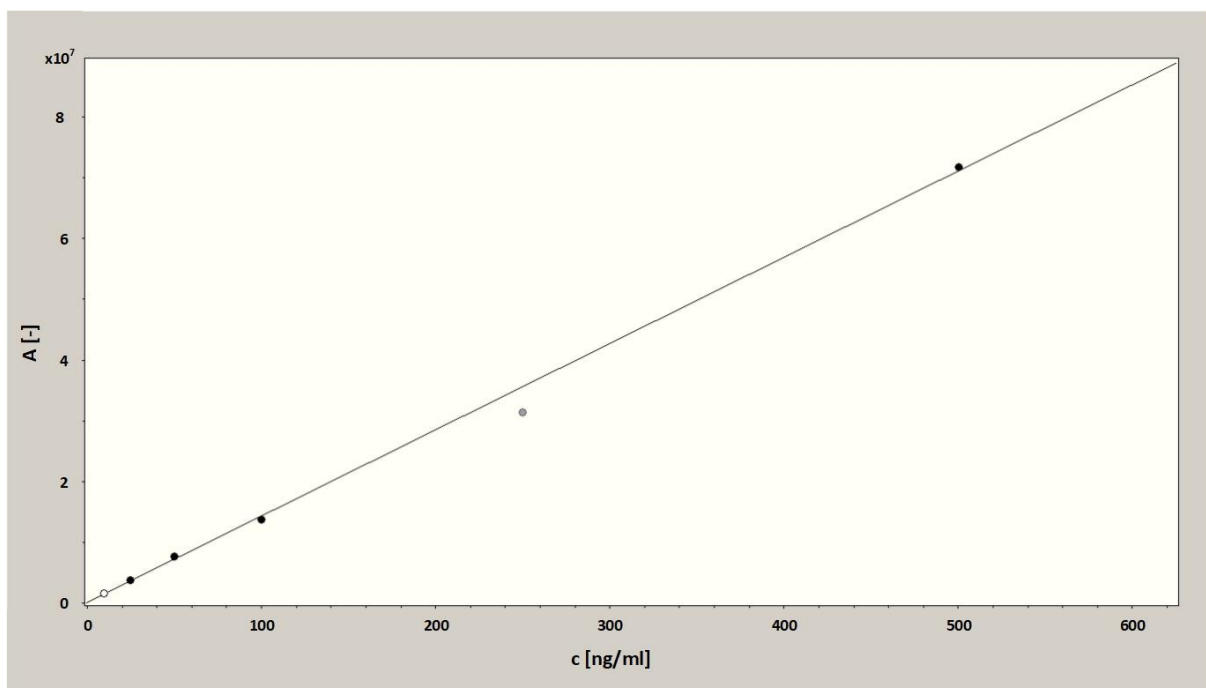
Obrázek 23. Kalibrační křivka azithromycinu [QuantAnalysis]



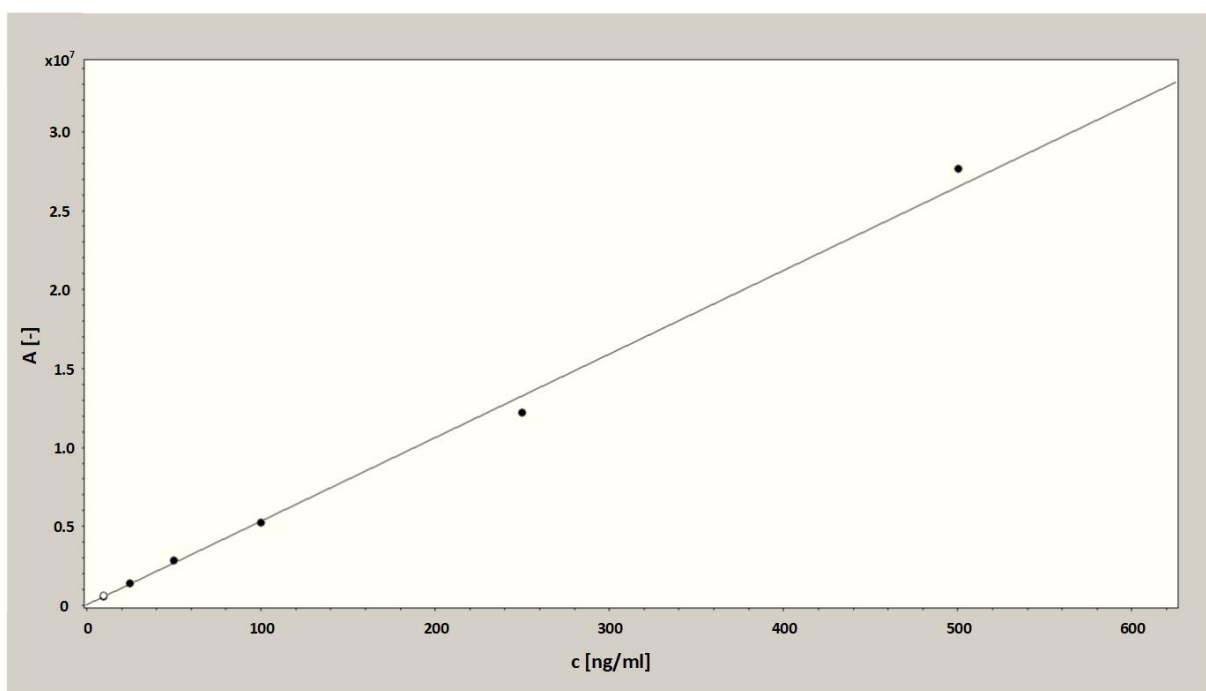
Obrázek 24. Kalibrační křivka diklofenaku [QuantAnalysis]



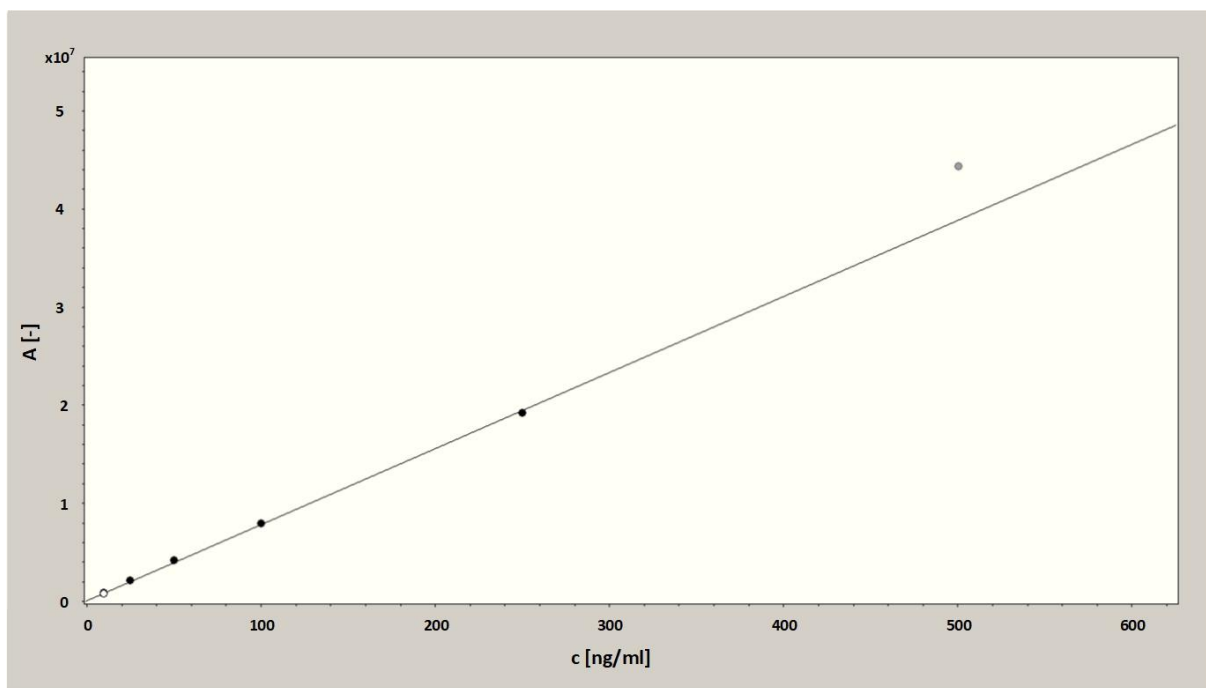
Obrázek 25. Kalibrační křivka ibuprofenu [QuantAnalysis]



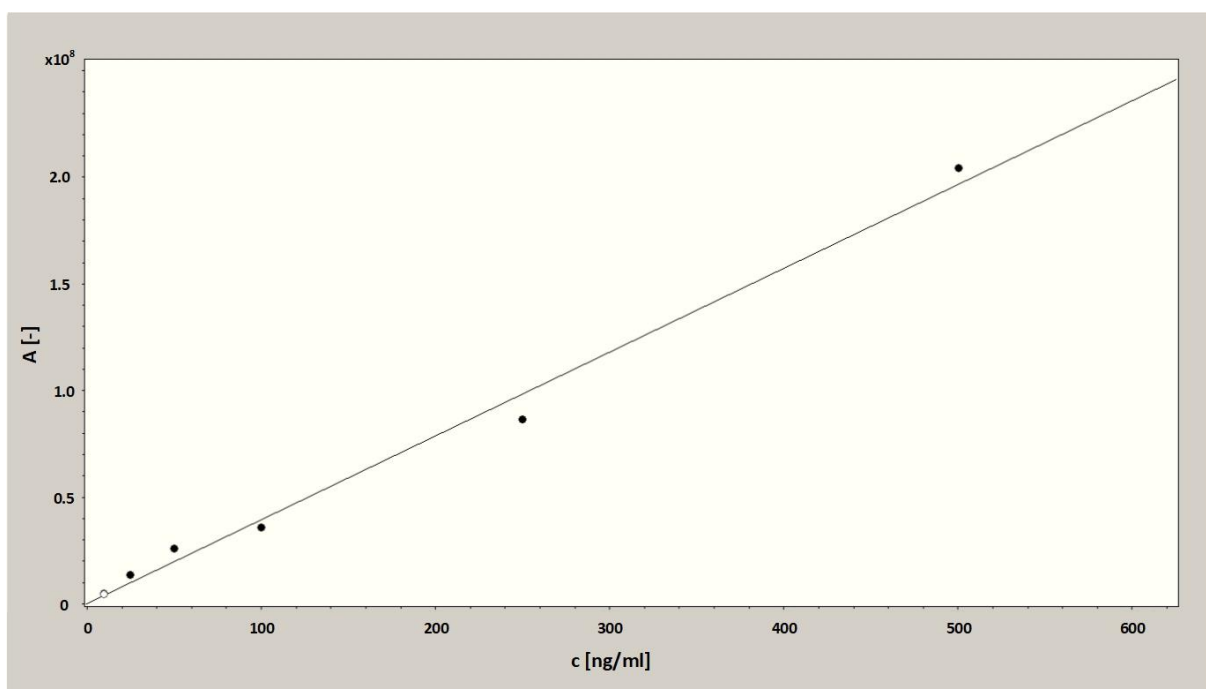
Obrázek 26. Kalibrační křivka karbamazepinu [QuantAnalysis]



Obrázek 27. Kalibrační křivka klarithromycinu [QuantAnalysis]



Obrázek 28. Kalibrační křivka sulfamethoxazolu [QuantAnalysis]



Obrázek 29. Kalibrační křivka trimethoprimu [QuantAnalysis]